

**UNTERSUCHUNGEN
ZUM AUSLÖSUNGSMECHANISMUS DES
SANARELLI-SHWARTZMAN-PHÄNOMENS**

Beitrag zur Pathogenese der Verbrauchskoagulopathie

Gert Müller-Berghaus

Gießen 1969

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dengler, Prof. Kühn, Prof. Lasch
Abteilung: Prof. H. G. Lasch

**UNTERSUCHUNGEN
ZUM AUSLÖSUNGSMECHANISMUS DES
SANARELLI-SHWARTZMAN-PHÄNOMENS**
Beitrag zur Pathogenese der Verbrauchskoagulopathie

Habilitationsschrift
zur
Erlangung der *venia legendi*
an der
Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Gert Müller-Berghaus

Gießen 1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung	1
II. Die Bedeutung der Kunst im Leben des Menschen	2
III. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	3
IV. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	4
V. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	5
VI. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	6
VII. Die Kunst als Ausdruck des Willens	7
VIII. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	8
IX. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	9
X. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	10
XI. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	11
XII. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	12
XIII. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	13
XIV. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	14
XV. Die Kunst als Ausdruck des Willens	15
XVI. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	16
XVII. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	17
XVIII. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	18
XIX. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	19
XX. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	20
XXI. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	21
XXII. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	22
XXIII. Die Kunst als Ausdruck des Willens	23
XXIV. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	24
XXV. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	25
XXVI. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	26
XXVII. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	27
XXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	28
XXIX. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	29
XXX. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	30
XXXI. Die Kunst als Ausdruck des Willens	31
XXXII. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	32
XXXIII. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	33
XXXIV. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	34
XXXV. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	35
XXXVI. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	36
XXXVII. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	37
XXXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	38
XXXIX. Die Kunst als Ausdruck des Willens	39
XL. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	40
XLI. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	41
XLII. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	42
XLIII. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	43
XLIV. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	44
XLV. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	45
XLVI. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	46
XLVII. Die Kunst als Ausdruck des Willens	47
XLVIII. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	48
XLIX. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	49
L. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	50
LXI. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	51
LXII. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	52
LXIII. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	53
LXIV. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	54
LXV. Die Kunst als Ausdruck des Willens	55
LXVI. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	56
LXVII. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	57
LXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	58
LXIX. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	59
LXX. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	60
LXXI. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	61
LXXII. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	62
LXXIII. Die Kunst als Ausdruck des Willens	63
LXXIV. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	64
LXXV. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	65
LXXVI. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	66
LXXVII. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	67
LXXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	68
LXXIX. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	69
LXXX. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	70
LXXXI. Die Kunst als Ausdruck des Willens	71
LXXXII. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	72
LXXXIII. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	73
LXXXIV. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	74
LXXXV. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	75
LXXXVI. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	76
LXXXVII. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	77
LXXXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	78
LXXXIX. Die Kunst als Ausdruck des Willens	79
LXXXX. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	80
LXXXXI. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	81
LXXXXII. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	82
LXXXXIII. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	83
LXXXXIV. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	84
LXXXXV. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	85
LXXXXVI. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	86
LXXXXVII. Die Kunst als Ausdruck des Willens	87
LXXXXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	88
LXXXXIX. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	89
LXXXXX. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	90
LXXXXXI. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	91
LXXXXXII. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	92
LXXXXXIII. Die Kunst als Ausdruck des Herzens	93
LXXXXXIV. Die Kunst als Ausdruck des Verstandes	94
LXXXXXV. Die Kunst als Ausdruck des Willens	95
LXXXXXVI. Die Kunst als Ausdruck des Gefühls	96
LXXXXXVII. Die Kunst als Ausdruck des Intellekts	97
LXXXXXVIII. Die Kunst als Ausdruck des Charakters	98
LXXXXXIX. Die Kunst als Ausdruck des Lebens	99
LXXXXXX. Die Kunst als Ausdruck des Geistes	100

Für Rotraud Müller-Berghaus



INHALT

A.	Einleitung	1
	Definition des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens	2
B.	Literaturübersicht	
	Historische Anmerkungen zum Sanarelli-Schwartzman-Phänomen	3
	Tierexperimentelle Befunde	
	1. Versuchsansatz	4
	2. Disseminierte intravasale Gerinnung	6
	3. Hemmung der Abbaumechanismen für Gerinnungszwischen- und -endprodukte	8
	4. Lokalisationsphänomene	12
C.	Fragestellung	14
D.	Material	
	1. Reagenzien	15
	2. Versuchstiere	19
E.	Methodik	
	1. Gerinnungsanalyse	22
	2. Histologie	25
	3. Elektronenmikroskopie	25
	4. Statistische Analyse	26
F.	Experimentelle Untersuchungen	
	I. Die Funktion des adrenergen Systems für das Sanarelli- Schwartzman-Phänomen	
	Vorbemerkungen	27
	1. Untersuchungsreihe: Verhinderung des Sanarelli- Schwartzman-Phänomens der trächtigen Ratte durch Alpha-Rezeptorenblocker des adrenergen Systems	
	Versuchsanordnung	29
	Ergebnisse	31
	Besprechung der Ergebnisse	43
	2. Untersuchungsreihe: Die Wirkung von Noradrenalin auf die Entstehung von Fibringerinnseln in den Glomerulum- kapillaren nach einmaliger Endotoxininjektion beim Kaninchen	
	Versuchsanordnung	47
	Ergebnisse	47
	Besprechung der Ergebnisse	48

II. Die Rolle des Plättchenfaktor 3 für die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens

Vorbemerkungen 51

3. Untersuchungsreihe: Infusion von Plättchenfaktor 3 bei Kaninchen und Ratten

Versuchsanordnung 53

Ergebnisse 55

Besprechung der Ergebnisse 64

III. Die Bedeutung des Hageman-Faktors für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen

Vorbemerkungen 69

4. Untersuchungsreihe: Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors im Verlauf des durch Liquoid ausgelösten Sanarelli-Schwartzman-Phänomens und dessen Verhinderung durch Lysozym

Versuchsanordnung 71

Ergebnisse 72

Besprechung der Ergebnisse 93

5. Untersuchungsreihe: Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens durch gleichzeitige Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin

Versuchsanordnung 100

Ergebnisse 101

Besprechung der Ergebnisse 127

G. Diskussion 134

H. Zusammenfassung 148

I. Literatur 155

A. Einleitung

In der klassischen Blutgerinnungslehre unterscheidet man zwischen hämorrhagischer Diathese und thromboembolischen Erkrankungen. In den letzten Jahrzehnten ist jedoch eine neue Form der erworbenen Gerinnungsstörung näher charakterisiert worden, die beides, nämlich hämorrhagische Diathese und Thrombose oder Embolie, in sich vereint. SELYE (1966) hat zur Charakterisierung des Nebeneinanderbestehens von hämorrhagischer Diathese und Thrombose bzw. Embolie den Begriff "thrombo-hämorrhagisches Phänomen" in die Literatur eingeführt. Die hämorrhagische Diathese bei diesem Phänomen ist durch den Mangel an Plättchen und verschiedenen Gerinnungsfaktoren bedingt, die im Verlauf eines intravasalen Gerinnungsprozesses verbraucht werden. Aus diesem Grund bezeichnete LASCH diese Form der Umsatzstörung im Gerinnungssystem als "Verbrauchskoagulopathie" (LASCH, 1959; LASCH et al., 1961 und 1967). Das pathologisch-morphologische Substrat der intravasalen Gerinnung sind fibrinreiche Mikropräzipitate in Arteriolen, Venolen und Kapillaren, weswegen McKAY (1964) von "disseminierter intravasaler Gerinnung" spricht.

Definition des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens

Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ist durch einen disseminierten intravasalen Gerinnungsprozeß charakterisiert, der zum generalisierten Verschuß der Glomerulumkapillaren mit fibrinreichen Präzipitaten führt. Nur wenn der Verschuß der Glomerulumkapillaren lange genug bestehen bleibt, kommt es zum Vollbild des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens mit doppelseitiger Nierenrindennekrose.

B. Literaturübersicht

Historische Anmerkungen zum Sanarelli-Schwartzman-Phänomen

Im Jahre 1894 beobachtete erstmalig SANARELLI, daß Affen nach einer zweimaligen intravenösen Injektion von Typhustoxin unter dem klinischen Bild einer generalisierten Purpura starben. Eine einmalige Injektion des Toxins vermochte weder Tod noch Purpura herbeizuführen. Im Jahre 1913 bestätigte KUSAMA diese Versuchsergebnisse beim Kaninchen. Tiere, denen zweimal im Abstand von etwa 24 Stunden intravenös Suspensionen hitzegetöteter Typhusbakterien verabreicht worden waren, starben auffallend rasch unter dem Erscheinungsbild einer hämorrhagischen Diathese. KUSAMA kommt das Verdienst zu, erstmalig auf den pathogenetisch bedeutsamen Befund einer ausgedehnten Mikrothrombosierung bei dieser Versuchsanordnung hingewiesen zu haben. Besonders die Kapillaren in Lunge, Leber und Milz wiesen nach den Beschreibungen von KUSAMA Fibrinthromben auf. Im Jahre 1924 berichtete SANARELLI über Veränderungen bei Kaninchen, denen eine subletale Dosis Choleravibrionen und 24 Stunden später eine ebenfalls subletale Dosis Colitoxin, beide Male intravenös, verabreicht worden war. Die Tiere starben im Schock bei kompletter Anurie. Bei der Sektion fanden sich besonders Hämorrhagien an Darm und Nieren. Erst 1928 beschrieben SHWARTZMAN sowie

HANGER unabhängig voneinander eine lokale Hautreaktion beim Kaninchen, nämlich eine hämorrhagische Hautnekrose, die nach intrakutaner Injektion in Form einer hämorrhagischen Hautnekrose, die nach intrakutaner Injektion am Ort der intrakutanen Injektion auftrat. Die hämorrhagische Nekrose blieb nach alleiniger intrakutaner Toxininjektion aus. Seit APITZ (1935) wird das Auftreten einer hämorrhagischen Nekrose nach intrakutaner und 24 Stunden später nachfolgender intravenöser Toxininjektion als lokale Schwartzman-Reaktion bezeichnet. Im Gegensatz hierzu läßt sich das generalisierte Schwartzman-Phänomen durch zweimalige, im Abstand von 24 Stunden aufeinanderfolgende intravenöse Toxininjektion auslösen. Im europäischen Sprachraum wird die generalisierte Schwartzman-Reaktion vorzugsweise als Sanarelli-Schwartzman-Phänomen bezeichnet (KRECKE, 1964).

Tierexperimentelle Befunde

Versuchsansatz

Das klassische Sanarelli-Schwartzman-Phänomen läßt sich beim Kaninchen durch zweimalige, im Abstand von etwa 24 Stunden aufeinanderfolgende intravenöse Injektion von Endotoxinen gramnegativer Bakterien auslösen. Seit den Untersuchungen von THOMAS und GOOD (1952) wird

die erste Injektion gewöhnlich als "vorbereitende" und die zweite als "auslösende" Injektion bezeichnet. Nach der ersten Injektion findet man eosinophiles Material, das einige Kapillaren in Lunge, Leber und Milz verschließen kann (APITZ, 1935; GERBER, 1936; BRUNSON, GAMBLE und THOMAS, 1955; McKAY und SHAPIRO, 1958). Falls die zweite Endotoxininjektion ausbleibt, überleben diese Tiere. Wenn jedoch etwa 24 Stunden später eine abermalige Endotoxininjektion intravenös verabreicht wird, entwickeln etwa 60% der Tiere eine hämorrhagische Diathese und sterben innerhalb 24 Stunden nach der zweiten Endotoxininjektion in einem protrahierten Schock, oder, falls sie lange genug leben, an den Folgen einer kompletten Anurie (SANARELLI, 1924; ZDRODOWSKI und BRENN, 1926; GRATIA und LINZ, 1932; weitere Literatur bei KRECKE, 1964). Die histologische Untersuchung der Organe zeigt wiederum eosinophiles Material, aber diesmal quantitativ viel stärker, in Lunge, Leber und Milz. Besonders auffallend ist jedoch der Verschluß der Glomerulumkapillaren der Niere mit eosinophilem Material. Dieser Verschluß hat eine Tubulusnekrose in der Niere und bei längerem Überleben der Tiere eine makroskopisch eindrucksvolle, doppelseitige symmetrische Nierenrindennekrose zur Folge (APITZ, 1934; GERBER, 1936; SHWARTZMAN, BERNHEIM und GERBER, 1938; THOMAS und GOOD, 1952; McKAY und SHAPIRO, 1958). Da die histologischen Veränderungen an der Niere in der Regel nur nach der zweiten auslösenden Endotoxininjektion beobachtet werden, muß der Verschluß der Glomerulumkapillaren durch einen speziellen pathogenetischen Mechanismus zustande-

kommen und wird deswegen heute als Sanarelli-Shwartzman-Phänomen bezeichnet.

Die Untersuchungen zur Pathogenese des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens haben sich besonders auf die Fragen konzentriert, aus welchen Substanzen das sog. eosinophile Material besteht und gemäß welchen pathogenetischen Mechanismen es zur Bildung dieses eosinophilen Materials kommt.

Disseminierte intravasale Gerinnung

Das eosinophile Material in den verschiedenen Kapillaren ist durch ausgiebige Studien verschiedener Autoren als Fibrinogenderivat identifiziert worden (BOHLE, SITTE und MILLER, 1958; McKAY, GITLIN und CRAIG, 1959). Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von BOHLE, SITTE und MILLER (1958) handelt es sich um Fibrin mit typischer Querstreifung und einer Periodizität von ungefähr $200 \text{ \AA}$. Der morphologische Nachweis von Fibrin reicht jedoch nicht aus, um eine disseminierte intravasale Gerinnung als pathogenetischen Mechanismus für die Ausbildung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens anzunehmen. Erst die gerinnungsanalytischen Untersuchungen erbrachten den Beweis:

1. Es kommt innerhalb von Minuten nach der ersten wie auch nach der zweiten Endotoxininjektion zu einem starken Abfall der zirkulierenden

Thrombocyten im Blut (McKAY und SHAPIRO, 1958; LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE, 1960). Die Blutplättchen machen in vivo Veränderungen durch, die denen einer viskösen Morphose in vitro entsprechen. Sie verändern nämlich im Verlauf eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens ihre morphologische Form und verlieren sowohl ihren Plättchenfaktor 3 als auch pharmakologisch aktive Amine an das strömende Blut (HOROWITZ, DES PREZ und HOOK, 1962; WEBER, MALESSA und LASCH, 1963).

2. Die globalen Gerinnungsmethoden wie Rekalzifizierungszeit, Blutungszeit, partielle Thromboplastinzeit und Thrombelastographie zeigen pathologische Veränderungen, wie sie bei einem komplizierten Gerinnungsdefekt auftreten, bedingt durch Abfall mehrerer Gerinnungsfaktoren (McKAY und SHAPIRO, 1958; KLEINMAIER et al., 1959).
3. Einzelanalysen der Gerinnungsfaktoren weisen auf einen kompletten Zusammenbruch des hämostatischen Potentials hin. Die Aktivität der Gerinnungsfaktoren I, II, V, VII, VIII, IX und X ist verschieden stark auf pathologische Werte vermindert (KLEINMAIER et al., 1959; weitere Literatur bei LASCH, 1964; sowie KRECKE, 1964).

Weitere Indizien, daß intravasale Gerinnungsprozesse kausalgenetisch eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens spielen, sind durch folgende Befunde erbracht worden:

- a. Antikoagulantien wie Heparin und Cumarin, die an verschiedenen

Stellen im Gerinnungssystem eingreifen, können das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen verhindern (GOOD und THOMAS, 1953; SHAPIRO und McKAY, 1958).

- b. Fibrinolytika wie Streptokinase oder Plasmin lösen im Verlauf des intravasalen Gerinnungsprozesses entstehende Fibrinogenderivate auf und vermögen so das Phänomen zu hemmen (CONDIE, HONG und GOOD, 1957; LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und WESTENHOEFER, 1961).

Es scheint demnach hinlänglich gesichert zu sein, daß die Nierenrindennekrose beim Sanarelli-Schwartzman-Phänomen kausalgenetisch durch den Verschuß der Glomerulumkapillaren mit Fibrin oder einem fibrin-ähnlichen Derivat des Fibrinogens verursacht wird.

Hemmung der Abbaumechanismen für Gerinnungszwischen- und -endprodukte

Nach einmaliger Endotoxininjektion beobachtet man gewöhnlich weder beim Kaninchen noch bei der Ratte oder beim Affen ausreichend Fibrinpräzipitate in der Niere, um sie lichtmikroskopisch erfassen zu können. Eine Erklärung hierfür wäre darin zu suchen, daß die intravasale Gerinnung quantitativ nicht stark genug abläuft, d.h. daß nicht genug Fibrin gebildet wird, oder daß gebildetes Fibrin wieder durch Abbaumechanismen wie Fibrinolyse, retikulo-endotheliales System oder Leukocyten

beseitigt wird.

Fibrinolyse. - Die Bedeutung der Hemmung der Fibrinolyse ist durch folgende Experimente von MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY (1964) hervorgehoben worden. Wurden nicht trächtige Ratten durch Thrombininfusion defibriniert, so konnten unmittelbar nach Ende der Thrombininfusion Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren der Niere nachgewiesen werden. Ließ man die Tiere bis zu einer Stunde nach Ende der Thrombininfusion am Leben, so waren die Fibrinablagerungen bei nicht trächtigen Ratten verschwunden, während bei trächtigen Tieren Fibringerinnsel nachzuweisen waren. Wenn den nicht trächtigen Ratten zusätzlich zu der Thrombininfusion der Fibrinolysehemmer Epsilon-Aminocapronsäure injiziert wurde, so konnten auch bei diesen Tieren die Fibringerinnsel dem Abbau durch eine Fibrinolyse entzogen werden. Aus dieser Untersuchung kann gefolgert werden, daß der Organismus Mikrogerinnsel in den Glomerulumkapillaren wieder aufzulösen vermag, daß aber während der Schwangerschaft dieser Abbaumechanismus für Fibrin zumindest teilweise gehemmt ist. Trasylol, Sojabohnentrypsininhibitor, Ovomucoid sind Proteaseinhibitoren, die beim Kaninchen experimentell erzeugte Mikrogerinnsel vor dem proteolytischen Abbau bewahren können, so daß die Tiere ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen entwickeln (BELLER, MITCHELL und GORSTEIN, 1967). Im Kaninchenexperiment zeigten BELLER und GRAEFF (1967), daß durch Endotoxin-Infusion Fibrinablagerungen in Glomerulumkapillaren der Niere erzeugt werden können. Wurde solchen Tieren am Ende der 14-stündigen Endotoxin-

infusion eine Niere in Narkose entfernt, so fand man Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren. Wenn die zweite Niere erst 34 Stunden später entfernt wurde, war sie frei von Fibrin. Gerinnsel mußten demnach wieder aufgelöst worden sein. Die Befunde der angeführten Autoren sind vielfach reproduziert worden, so daß kein Zweifel an der Fibrinolysehemmung für die Pathogenese des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens besteht. Es ist bisher jedoch noch nicht geklärt, ob es sich um die Hemmung eines lokalen oder eines generalisierten fibrinolytischen Prozesses handelt.

Retikulo-endotheliales System. - GOOD und THOMAS (1952) zeigten, daß nach sog. Blockade des retikulo-endothelialen Systems (RES) durch Thorotrast oder Trypanblau eine einmalige Endotoxininjektion ausreicht, um ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auszulösen. Zunächst wurde angenommen, daß "Blockade" des RES eine Klärung und Inaktivierung des Endotoxins verhindert (CREMER und WATSON, 1957; THOMAS, 1957). Wenn dem RES eine Bedeutung für die Ausbildung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens zugeschrieben werden kann, dann nur unter der Vorstellung, daß ein in seiner Phagocytosefunktion gestörtes RES aktivierte Gerinnungsfaktoren (Faktoren VII, IX, X) bzw. Fibrinogen-Fibrin-Zwischenprodukte nicht mehr ausreichend aus der Zirkulation herausklären kann. LASCH und ROKA (1953), SPAET et al. (1961) sowie DEYKIN et al. (1968) zeigten, daß das RES ein wichtiger Regulator einer überschießenden Gerinnung sein kann. LEE und McCLUSKEY (1962) wiesen

in Kaninchenexperimenten nach, daß das RES Fibrinogenderivate aus dem strömenden Blut herausfangen und so der Präzipitation in den Kapillaren entführen kann. Es soll hier erwähnt werden, daß RES-blockierende Substanzen wie Glykogen oder Stärke Thorotrast als "vorbereitende" Injektion zur Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens nicht ersetzen können (GOOD und THOMAS, 1952). Andererseits wurde durch die Untersuchungen von McGEHEE, HJORT und RAPAPORT (1966) sowie von LEVIN und BECK (1966) gezeigt, daß Thorotrast einen stark aktivierenden Effekt auf das Gerinnungssystem wie auch eine Hemmwirkung auf die Fibrinolyse hat. Die Bedeutung des RES für das Zustandekommen des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens scheint demnach noch nicht eindeutig geklärt zu sein.

Leukocyten. - Besonders neutrophile Leukocyten besitzen die Fähigkeit, "angeronnenes" Fibrinogen und Fibrin zu phagocytieren. Wie Untersuchungen von BARNHART, CRESS und VETTRAINO (1967) zeigten, phagocytieren neutrophile Leukocyten unlösliches Fibrinogen und Fibrin, das bei intravasalen Gerinnungsprozessen entstanden ist, während das RES der Leber und der Milz nur Fibrinogenabbauprodukte aus der Blutbahn klären kann. Fibrinogenabbauprodukte entstehen aber nur nach überschüssiger Fibrinolyse. Darüber hinaus besitzen Leukocyten proteolytische Enzyme, die das fibrinolytische System aktivieren können (BLEYL, 1969).

Lokalisationsphänomene

Ungeklärt scheint zu sein, wie es zur Fibrinablagerung kommt. Injiziert man nämlich Endotoxin intravenös, so resultiert zwar eine Fibrinbildung, die Fibrinfäden sind aber nicht, wie elektronenoptische Untersuchungen zeigten, an das Endothel fixiert, sondern schwimmen frei im Plasma umher (McKAY und MÜLLER-BERGHAUS, 1967). Es kann also nicht gesagt werden, ob Fibrin bei intravasalen Gerinnungsprozessen in den Kapillaren selbst entsteht, ob Fibrinmonomer erst in den Kapillaren zu sichtbarem Fibrin polymerisiert oder ob Fibrinfäden embolisch in die Kapillaren verschleppt und dort deponiert werden. Auffallend ist jedoch, daß bei generalisierter intravasaler Gerinnung Fibrinpräzipitate nicht gleichmäßig in allen Kapillaren des Körpers verteilt gefunden werden. Für dieses Phänomen hat man "Lokalisationsfaktoren" verantwortlich gemacht (McKAY, 1964; SELYE, 1966).

Adrenerges System. - Nach Endotoxininjektion kommt es zu einem stetigen Anstieg der Katecholamine (HEIFFER, MUNDY und MEHLMANN, 1960; ROSENBERG et al., 1961). HALL, BROOM und BRUNSON (1964) konnten nun zeigen, daß das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen bei Kaninchen, bei denen eine Resistenz gegenüber Adrenalin erzeugt worden war, nicht auszulösen ist. PALMERIO et al. (1962) verhinderten durch einseitige renale Sympathektomie das Auftreten einer Nierenrindennekrose nur an der denervierten Niere. Ein Cortex-Medulla-Shunt der Niere

(TRUETA et al. , 1947) könnte die besondere Empfindlichkeit dieses Organs gegenüber der vasomotorischen Wirkung des Endotoxins erklären.

Adrenocorticotropes Hormon. - MARGARETTEN et al. (1965) zeigten, daß ACTH Fibrin in den Sinus der Nebenniere lokalisiert, wenn eine intravasale Gerinnung durch Thrombininfusion ausgelöst wird. Fibringerinnsel werden bei diesem Versuchsansatz in der Niere nicht gefunden. Danach stellt ACTH einen Lokalisationsfaktor für Ablagerungen von Fibrin in der Nebenniere dar.

C. Fragestellung

Die disseminierte intravasale Gerinnung ist zwar als zentrales Geschehen in der Pathogenese des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens erkannt worden, der Auslösungsmechanismus des intravasalen Gerinnungsprozesses konnte aber bisher nicht aufgeklärt werden. Es wurden deshalb Untersuchungen durchgeführt, um verschiedene Einzelfaktoren zu testen, die bei der Auslösung des Phänomens eine Rolle spielen könnten. Dabei ergaben sich im einzelnen folgende Fragestellungen:

1. Können durch Hemmung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems die Entstehung fibrinreicher Präzipitate in den Glomerulumkapillaren der Niere verhindert und die Veränderungen im Gerinnungssystem nach intravenöser Endotoxininjektion aufgehoben werden?
2. Kann durch Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems und Aktivierung des Gerinnungssystems ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen ausgelöst werden?
3. Welche Rolle spielen die Blutplättchen für die Auslösung der disseminierten intravasalen Gerinnung beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen?
4. Welche Bedeutung hat der Hageman-Faktor bei der Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens?
5. Kann durch intravasale Aktivierung des Hageman-Faktors ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen ausgelöst werden?

D. Material

1. Reagenzien

Endotoxin. - Escherichia coli Endotoxin, O55:B5, Lipopolysaccharide B der Firma Difco Laboratories (Detroit, Mich., USA) wurde für diese Versuche verwendet. Das Endotoxin wurde täglich frisch in steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, so daß die zu verabreichende Dosis in 1 bis 1,5 ml Gesamtvolumen enthalten war. Ratten wurde die Endotoxinlösung intravenös in die Schwanzvene mit Hilfe eines Baby-Infusionsbesteckes injiziert. Kaninchen wurde die Endotoxinlösung durch eine marginale Ohrvene verabreicht.

Thrombin. - Thrombin der Firma Parke, Davis und Co. (Detroit, Mich., USA) wurde in steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Unter Verwendung einer Sigmamotor-Infusionspumpe wurde Ratten die Thrombinlösung intravenös infundiert (Konzentration: 7,2 NIH-Einheiten/ml; Infusionsgeschwindigkeit 1,2 Einheiten/min).

Inosithin. - Dies ist eine Sojabohnen-Phospholipidpräparation der Firma Associated Concentrates, Inc. (Woodside, N.Y., USA). Eine Emulsion wurde mittels steriler pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung hergestellt (Konzentration: 1 mg/ml).

Thrombofax. - Es handelt sich um eine Emulsion aus Kaninchengehirn-

extrakt der Firma Ortho Pharmaceutical Co. (Raritan, N. J., USA), die als partielles Thromboplastin Verwendung findet.

Hyland Partial Thromboplastin, - Dieses Thromboplastin wird ebenfalls aus Kaninchenhirnextrakt gewonnen und von der Firma Hyland Laboratories (Los Angeles, Calif., USA) hergestellt. Es wurde in steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung aufbereitet.

Gereinigter Rinderplättchenfaktor 3, - Diese Substanz wurde uns freundlicherweise von Dr. E. F. Mammen (Department of Physiology and Pharmacology, Wayne State University, Detroit, Mich., USA) zur Verfügung gestellt. Sie ist die Lipoproteinpräparation mit Plättchenfaktor-3-Aktivität, die aus Rinderplättchen nach dem Verfahren von ALKJAERSIG, ABE und SEEGER (1955) hergestellt wurde. Die konzentrierte Präparation wurde bei -20°C aufbewahrt und unmittelbar vor dem Versuch auf 50 ml mit steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Ellagsäure, - Ellagsäure wurde von der Firma K & K Laboratories (Plainview, N. Y., USA) bezogen. Einhundertzwanzig Milligramm wurden mit steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung in einem Handhomogenisator ungefähr 10 Minuten lang gerührt und dann mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu einem Gesamtvolumen von 500 ml verdünnt. Die Suspension wurde täglich frisch zubereitet und hatte eine beige Farbe. Durch Mischung der Suspension mit Plasma konnte die Trübung beseitigt werden.

Liquoid. - Liquoid, Natriumpolyanetholsulfonat, wurde von der Firma Hoffmann La Roche, Basel, Schweiz, bezogen. Wöchentlich wurde eine frische 1%ige Liquoidlösung mit steriler, pyrogenfreier isotoner Kochsalzlösung hergestellt, diese in Mengen von 3 ml abgefüllt und bei -20°C bis unmittelbar vor Versuchsbeginn aufbewahrt. Kaninchen erhielten 10 mg Liquoid pro kg Körpergewicht.

Thorotrast. - Kolloidales Thoriumdioxid (25%) der Firma Fellows Testagar (Detroit, Mich., USA) wurde in einer Dosierung von 3 ml/kg Körpergewicht intravenös appliziert.

EACA. - Epsilon-Aminocaprinsäure (Amicar) der Firma Lederle Laboratories Division (Pearl River, N.Y., USA) wurde in steriler, pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. EACA wurde Ratten intraperitoneal, Kaninchen und Affen intravenös mittels einer Infusionspumpe verabreicht.

Lysozym. - Kristallisiertes Lysozym wurde von der Firma C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim, bezogen, in gepufferter physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,4) aufgelöst, so daß 30 mg Lysozym in 1 ml Lösung enthalten waren. Unter Verwendung einer Infusionspumpe wurde Kaninchen durch einen Ohrvenenkatheter die Lysozymlösung verabreicht. Die Tiere erhielten soviel Lysozym, daß die partielle Thromboplastinzeit im Vollblut ("rote" PTT) mindestens auf 60 Sekunden verlängert war.

Noradrenalin. - Levophed (Noradrenalin der Firma Winthrop Laboratories,

New York, N. Y., USA) wurde mit 5% Dextrose in steriler pyrogenfreier physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, so daß 0,6 ml Levophed pro kg Körpergewicht in 100 ml Verdünnungslösung enthalten waren. Ein Milliliter Levophed entspricht 1 mg Noradrenalin.

Dibenamine. - N,N-Dibenzyl- β -chloräthylamin-hydrochlorid (Dibenamine der Firma Smith, Kline and French Laboratories, Philadelphia, Penna., USA) wurde in steriler physiologischer Kochsalzlösung (5 mg/ml) gelöst. Drei Stunden vor der Endotoxininjektion wurde Ratten 0,5 ml Dibenaminelösung pro 100 g Körpergewicht intramuskulär verabreicht, so daß die Ratten 25 mg Dibenamine pro kg Körpergewicht erhielten. Kontrolltieren wurde das gleiche Volumen Lösungsmittel intramuskulär injiziert.

Dibenzylin. - Phenoxybenzamin-hydrochlorid (Dibenzylin der Firma Smith, Kline and French Laboratories, Philadelphia, Penna., USA) zur Injektion (50 mg/ml) wurde 1:100 in steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Eine bis 1 1/2 Stunden vor Endotoxininjektion wurde Ratten 1 ml der verdünnten Dibenzylinlösung pro 100 g Körpergewicht intravenös verabreicht, so daß die Tiere 5 mg Dibenzylin pro kg Körpergewicht erhielten. Kontrolltieren wurde das gleiche Volumen einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung intravenös injiziert. Affen erhielten ebenfalls 5 mg Dibenzylin pro kg Körpergewicht einer 0,5%igen Dibenzylinlösung intravenös.

Intravenöse Infusionen. - Die Substanzen wurden in steriler, pyrogenfreier isotoner Kochsalzlösung gelöst oder verdünnt und nicht anästhesierten Kaninchen bzw. anästhesierten Affen oder anästhesierten Ratten unter Verwendung von zwei Sigmamotor-Pumpen (Modell TM-20-2) und einer Harvard-Pumpe (Modell 975) infundiert. In der 4. Untersuchungsreihe wurde die sterile, pyrogenfreie physiologische Kochsalzlösung durch Zugabe von 1 Teil TRIS-Puffer (pH 7,4) zu 19 Teilen Kochsalzlösung gepuffert und die Lösungen nicht anästhesierten Kaninchen unter Verwendung der Infusionspumpe "Perfusor" der Firma B. Braun, Messungen, infundiert.

2. Versuchstiere

Ratten. - Versuche wurden an trächtigen und nicht trächtigen Albino-ratten des Columbia-Sherman-Stammes, 160 bis 200 Gramm schwer, durchgeführt. Trächtige Ratten wurden am 20. Tag der Tragzeit in den Versuch genommen. Die Tiere wurden mit Trockenfutter und Wasser ad libitum gefüttert. Intravenöse Injektionen erfolgten unter Äthernarkose. Falls die Tiere der Gruppe 1-4 der 1. Untersuchungsreihe nicht spontan starben, wurden sie 24 Stunden nach Endotoxininjektion durch Äther getötet. Den Ratten der Gruppe 5 und 6 der 1. Untersuchungsreihe wurde in Äthernarkose 4 Stunden nach Injektion von Endotoxin bzw. physiologischer Kochsalzlösung durch Herzpunktion am offenen Thorax Blut zur

Analyse entnommen.

Kaninchen. - Nicht trächtige weibliche Albinokaninchen der 2. und 5. Untersuchungsreihe wogen zwischen 1,8 und 2,6 kg. In der 3. Untersuchungsreihe wogen nicht trächtige weibliche Albinokaninchen der Gruppe I, II und III zwischen 1,1 und 2,1 kg, die der Gruppe IV zwischen 1,8 und 2,6 kg. In der 4. Untersuchungsreihe wurden Kaninchen beiderlei Geschlechts, zwischen 1,6 und 2,1 kg schwer, verwendet. Unter Lokalanästhesie wurden den Kaninchen silikonisierte Polyäthylenkatheter entweder in die marginale Ohrvene oder in eine Ohrvene und in eine Jugularvene geschoben. Durch die Ohrvenenkatheter erfolgten die Infusionen; der Jugularvenenkatheter wurde ausschließlich zur Gewinnung von Blutproben verwendet. Mit dieser Methode konnten Infusionen über längere Zeitspannen durchgeführt werden, ohne die Tiere markotisieren zu müssen.

Affen. - Nicht trächtige weibliche Rhesusaffen (*Macaca mulatta*), 2,8 bis 4,4 kg schwer, wurden durch intravenöse Injektion von 20 bis 30 mg Pentobarbital (Diabutal der Firma Diamond Laboratories, Inc., USA) pro Kilogramm Körpergewicht narkotisiert. Das Narkotikum wurde alle halbe bis eine Stunde nachgespritzt, um eine möglichst gleichmäßige Narkose zu erzielen. Ein Polyäthylenkatheter wurde durch eine Femoralarterie eingeführt, in die Aorta bis distal vom Abgang der Arteria renalis vorgeschoben und der arterielle Blutdruck durch Verbindung des Katheters mit einem Statham-Manometer und Direktschreiber

fortlaufend aufgezeichnet. Infusionen erfolgten mit Hilfe eines venösen Katheters in der Vena femoralis. Der arterielle Katheter diente auch zur Blutabnahme. Blutproben (2,5 ml) wurden vor Beginn der Infusionen und 1/4, 2, 4 und 5 Stunden nach Infusionsbeginn gewonnen.

E. Methodik

1. Gerinnungsanalytische und fibrinolytische Untersuchungsverfahren

Leukocyten und Thrombocyten wurden in direkten Verfahren unter Verwendung eines Phasenkontrastmikroskops nach der Methode von BRECHER und CRONKITE (1950) gezählt. Fibrinogen wurde gemäß der Methode von RATNOFF und MENZIE (1951) und Plasminogen gemäß dem Verfahren von PHILLIPS und SKRODELIS (1958) bestimmt. Die Faktor-V-Bestimmung erfolgte in der 1. und 5. Untersuchungsreihe nach der Methode von STEFANINI (1951). In der 4. Untersuchungsreihe wurde Faktor V gemäß dem Verfahren von KOLLER, LOELIGER und DUCKERT (1951) unter Verwendung käuflicher Reagenzien der Behringwerke, Marburg, bestimmt. Die partielle Thromboplastinzeit (PTT) wurde nach der Modifikation von PROCTER und RAPAPORT (1961) gemessen. Zur Bestimmung der "roten" PTT wurde Blut anstelle von Plasma verwendet. Thrombelastogramme wurden mit rekalfiziertem Blut gemäß dem Verfahren von HARTERT (1951) geschrieben.

Die Aktivität des Hageman-Faktors wurde nach einer neuen Zweistufen-Methode gemessen. Der Test beruht auf dem Prinzip, daß verdünntes Testplasma die partielle Thromboplastinzeit eines Substratplasmas verkürzt, indem die Hageman-Faktor-Aktivierung durch Lysozym gehemmt

ist. NOSSEL et al. (1968) beschrieben, daß Lysozym spezifisch die Aktivierung des Hageman-Faktors hemmt. Es wurde gezeigt, daß Lysozym die Aktivität der Gerinnungsfaktoren I, II, V, VII, VIII, IX und X nicht beeinflußt. Das Substratplasma wurde wie folgt hergestellt: 2 Teile Citratplasma vom Kaninchen wurden mit 1 Teil gepufferter Lysozymlösung (30 mg/ml) gemischt und diese Lösung in Mengen zu 0,2 ml aufgeteilt. Tachostyptest der Firma Hormon Chemie, München, wurde anstelle von Plättchenfaktor 3 benutzt und vor Verwendung 1:50 mit gepufferter Kochsalzlösung verdünnt. 0,1 ml der verdünnten Tachostyptest-Lösung wurde zu 0,2 ml Substratplasma gegeben und diese Mischung 2 Minuten lang bei 37° C inkubiert. Die erste Phase des Tests besteht in einer Aktivierung des Hageman-Faktors durch Celite (Celite 503 der Firma C. Roth, Karlsruhe). Zu diesem Zweck wurde 0,1 ml Testplasma mit 0,1 ml Celite (20 mg/ml) gemischt und genau 5 Minuten lang bei 37° C inkubiert. Diese Mischung wurde mindestens 1:10 mit gepufferter Kochsalzlösung nach der fünfminütigen Inkubationszeit verdünnt und zu dem inkubierten Substratplasma hinzugegeben. Im Anschluß hieran wurde 0,2 ml Calciumchlorid (0,025 m) zur Rekalkifizierung der Mischung hinzugefügt. Gewöhnlich wurden Gerinnungszeiten zwischen 90 und 120 Sekunden gemessen, wenn normales Kaninchenplasma als Testplasma verwendet und dieses 1:10 verdünnt wurde. Alle Lösungen, ebenso wie das Substratplasma, wurden täglich frisch hergestellt. Eine Verdünnungskurve wurde unter Verwendung der Kontrollprobe eines jeden Tieres als normales Testplasma aufgestellt. Die 1:10 Verdünnung wurde gleich 100% Hageman-Faktor-Aktivität gesetzt.

In vitro-Untersuchungen über den Effekt des Dibenzylins auf die Rekalzifizierungszeit von plättchenreichem Plasma wurden bei 37° C in nicht-silikonierten Glasröhrchen durchgeführt. Unterschiedliche Konzentrationen von Dibenzylin in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung wurden mit 0,2 ml Plasma eine Minute lang inkubiert. Anschließend wurde zur Rekalzifizierung des Plasmas 0,2 ml Calciumchlorid (0,025 m) hinzugefügt und die Gerinnungszeit bestimmt.

Plättchenfaktor-3-Aktivität von Kaninchenplättchen wurde wie folgt bestimmt: Citratblut (3,8% Natriumcitrat; 1 Teil Citrat + 9 Teile Blut) wurde in silikonierten Glasgefäßen aufgefangen. Die Plättchenzahl wurde im Citratblut nach der Methode von BRECHER und CRONKITE (1950) mit dem Phasenkontrastmikroskop bestimmt. Durch Differentialzentrifugation wurde plättchenreiches und plättchenarmes Plasma hergestellt, die abzentrifugierten Plättchen in gepufferter, mit Citrat versetzter physiologischer Kochsalzlösung dreimal gewaschen und in derselben Lösung resuspendiert. Die Plättchen wurden abermals gezählt und danach das Volumen der Plättchensuspension so eingestellt, daß die Plättchenzahl in der Suspension der im anfangs bestimmten Blut entsprach. Anschließend wurden die Plättchen sedimentiert und durch destilliertes Wasser sowie dreimaliges Einfrieren und Auftauen aufgebrochen. Das Endvolumen wurde auf das errechnete Volumen eingestellt, das der Plättchenzahl im Blut entsprach. Die Plättchenfaktor-3-Aktivität der Suspension wurde mit dem Thromboplastinbildungstest nach BIGGS, DOUGLAS und MACFARLANE

(1953) wie folgt bestimmt: Kaninchenserum (1:10 verdünnt), an Bariumsulfat adsorbiertes Kaninchenplasma (1:5 verdünnt) und Calciumchlorid (0,025 m) wurde für die Bestimmungen verwendet. Die Sojabohnen-Phospholipidpräparation (Inosithin) wie auch der gereinigte Rinderplättchenfaktor 3 wurden in verschiedenen Konzentrationen am selben System getestet, um vergleichbare Verdünnungskurven zu erhalten.

2. Histologie

Die Tiere wurden unmittelbar nach Eintritt des Spontanotodes oder nach Tötung seziert und die Organe in gepufferter Formalinlösung bzw. Bouin'scher Lösung fixiert. Schnitte wurden mit Hämatoxylin und Eosin bzw. mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin gefärbt. In der 4. Untersuchungsreihe wurde Fibrin unter Verwendung der Dimethylaminobenzaldehyd-Nitrit Reaktion zum histochemischen Nachweis von Tryptophan gemäß der Methode von ADAMS (1957) nachgewiesen.

3. Elektronenmikroskopie

Gewebe für elektronenoptische Untersuchungen wurde am narkotisierten Kaninchen gewonnen, in Osmium fixiert und in Araldite eingebettet. Einzelheiten der angewandten Methoden sind bei WIENER, SPIRO und MAR-

GARETTEN (1964) beschrieben. Ein RCA EMU-3 F wurde für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen verwendet.

4. Statistische Analyse

Ergebnisse der 1. Untersuchungsreihe wurden mit dem χ^2 -Test in einer 4 x 2 Feldertafel und anschließend unter Verwendung individueller χ^2 -Test mit Kontinuitätskorrektur analysiert. Standardabweichung (s) und t-Test wurden zur Analyse der gerinnungsanalytischen Werte verwendet. Ein p-Wert von kleiner als 0,05 wurde als signifikant betrachtet.

F. Experimentelle Untersuchungen

I. Die Funktion des adrenergen Systems für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen

Vorbemerkungen

Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen wird von einer Dilatation der Glomerulumkapillaren begleitet, die 3 bis 4 Stunden nach der "auslösenden" Endotoxininjektion auftritt. Diese vasomotorische Reaktion kann durch eine einmalige Endotoxininjektion nur dann hervorgerufen werden, wenn die Tiere entweder durch Trächtigkeit, Cortison oder Thorotrast für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen "präpariert" wurden (McKAY und MERRIAM, 1960; McKAY und ROWE, 1960; GALTON, WONG und McKAY, 1960; WONG, GALTON und McKAY, 1961). Eine einmalige Endotoxininjektion, Trächtigkeit, Cortison oder Thorotrast alleine vermögen keine Dilatation der Glomerulumkapillaren hervorzurufen. Ebenso wenig kann durch Anstoßen eines intravasalen Gerinnungsprozesses durch einmalige Endotoxininjektion, durch Aktivierung des Hageman-Faktors mittels Ellagsäureinfusion oder durch Infusion von Plättchenfaktor 3 das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ausgelöst werden (McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969; MÜLLER-BERGHAUS et al., 1967). Offensichtlich sind Zusatzmechanismen zum intravasalen Gerinnungsprozeß notwendig,

um Mikrothromben in den Glomerulumkapillaren hervorzurufen. McKAY vermutete, daß Dilatation der Glomerulumkapillaren zumindest einen Faktor darstellt, der zur Lokalisation von Fibrin in diesen Gefäßbezirken gefordert werden muß (McKAY, 1964).

Die Freisetzung von Katecholaminen, Histamin oder Serotonin wurde für die Dilatation der Glomerulumkapillaren verantwortlich gemacht (McKAY, 1964). Verschiedene Versuche wurden durchgeführt, um die Bedeutung des adrenergen Systems für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen abzuklären. So konnten PALMERIO et al. (1962) zeigen, daß nach einseitiger Durchtrennung des Sympathikus die Ausbildung einer Rindennekrose der denervierten Niere ausbleibt. Nach "auslösender" Endotoxininjektion konnte bei der nicht denervierten Niere desselben Tieres eine Nierenrindennekrose hervorgerufen werden. Andererseits konnte THOMAS (1956) die Nierenrindennekrose des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens durch einen Alpha-Rezeptorenblocker nicht verhindern, während FINE, RUTENBURG und SCHWEINBURG (1959) berichteten, daß Dibenamine die Tiere vor dem Sanarelli-Schwartzman-Phänomen schützt. Diese Autoren lösten das Phänomen entweder durch eine letale Thorotrastinjektion oder durch Doppelinjektion von Thorotrast aus, ein Versuchsansatz, mit dem es uns nicht gelang, ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen hervorzurufen (unveröffentlichte Ergebnisse).

Wir gingen der Frage nach, ob es mit den Alpha-Rezeptorenblockern des adrenergen Systems, Dibenamine und Dibenzylamine, möglich ist, das

Sanarelli-Schwartzman-Phänomen der trächtigen Ratte zu beeinflussen (1. Untersuchungsreihe). Durch Bestimmung einiger gerinnungsanalytischer und fibrinolytischer Parameter sollte untersucht werden, ob Dibenzylin das in vivo-Gerinnungs- bzw. Fibrinolysesystem beeinflusst. In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde versucht, fibrinreiche Präzipitate in den Glomerulumkapillaren der Kaninchenniere durch einmalige Endotoxininjektion und nachfolgende Noradrenalininfusion zu erzeugen (2. Untersuchungsreihe).

1. Untersuchungsreihe: Verhinderung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens der trächtigen Ratte durch Alpha-Rezeptorenblocker des adrenergen Systems

Versuchsordnung

Trächtige Ratten wurden in 6 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe 1: Sechzehn trächtige Ratten erhielten 0,1 mg Endotoxin intravenös. Acht Tiere dieser Gruppe waren mit Dibenamine vorbehandelt, während den restlichen 8 Tieren (Kontrolltieren) nur physiologische Kochsalzlösung verabreicht worden war.

Gruppe 2: Achtzehn trächtige Ratten erhielten 0,2 mg Endotoxin. Neun Tiere dieser Gruppe waren mit Dibenamine vorbehandelt, während die

restlichen 9 Tiere als Kontrollen dienten.

Gruppe 3: Zweiundzwanzig trächtigen Ratten wurden 0,4 mg Endotoxin injiziert. Elf dieser Tiere waren mit Dibenamine vorbehandelt, während die restlichen 11 Ratten als Kontrollen dienten.

Gruppe 4: Zweiundzwanzig trächtigen Ratten wurden 0,4 mg Endotoxin intravenös injiziert. Anstelle von Dibenamine, wie in Gruppe 3, waren 11 Tiere dieser Gruppe mit Dibenzylin vorbehandelt worden. Den restlichen 11 Ratten (Kontrolltieren) war physiologische Kochsalzlösung injiziert worden.

Gruppe 5: Den 32 trächtigen Ratten dieser Gruppe wurden 0,4 mg Endotoxin einer anderen Charge als Gruppe 4 injiziert. Zwölf dieser Tiere waren mit Dibenzylin vorbehandelt, während die restlichen 20 Tiere physiologische Kochsalzlösung anstelle des Dibenzylins erhalten hatten. Allen Tieren dieser Gruppe wurde 4 Stunden nach Endotoxininjektion Blut zur Analyse entnommen.

Gruppe 6: Zehn Tieren wurde nur physiologische Kochsalzlösung intravenös injiziert. Eine Stunde nach Injektion der physiologischen Kochsalzlösung wurde den Tieren Blut zur Analyse entnommen. Das Blut dieser Tiere diente zur Feststellung der Normalwerte.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Gruppe 1 bis 4 sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Gruppe 1 (0,1 mg Endotoxin). - In der Kontrollgruppe starben 50% der Tiere 3 1/2 bis 19 Stunden nach Endotoxininjektion. Die Nieren der Tiere, die spontan starben, wiesen Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf. Bei 2 Tieren, die die Endotoxininjektion um mehr als 8 Stunden überlebten, fand sich eine Nierenrindennekrose. Keines der mit Dibenamine behandelten Tiere starb, aber bei einem Tier ließen sich Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren feststellen. Die Veränderungen in der Leber, nämlich Blutungen bzw. fokale Nekrosen, wurden durch Dibenamine verhindert ($p < 0,005$).

Gruppe 2 (0,2 mg Endotoxin). - In dieser Gruppe trat trotz höherer Endotoxindosis das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen in keiner höheren Rate auf. Fibringerinnsel wurden bei allen Tieren beobachtet, die innerhalb 24 Stunden nach Endotoxinschock starben. Jedoch ließen sich in keiner Niere der Tiere, die mit Dibenamine vorbehandelt worden waren, Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren feststellen. Blutungen bzw. fokale Nekrosen in der Leber konnten durch Dibenamine nicht verhindert werden ($p=1$).

Gruppe 3 (0,4 mg Endotoxin). - Die Mortalitätsrate war in dieser Gruppe höher als in Gruppe 1 und 2 ($p < 0,02$). Neunzig Prozent der Tiere starben

Tab. 1: Häufigkeitsrate des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens bei trächtigen Ratten, die mit Dibenamine oder Dibenzyline behandelt wurden. (Aus: MÜLLER-BERGHaus und MCKAY, 1967).

Gruppe	Endotoxin	Behandlung	Ratten	Mortalität			Fibringerinsel in der Niere			Fokale Nekrose bzw. Blutung in der Leber		
				No.	%	Signifikanz	No.	%	Signifikanz	No.	%	Signifikanz
1	0,1	Dibenamine	8	0	0	$p < 0,025$	1	12	$p < 0,2$	0	0	$p < 0,005$
	0,1	0,9% NaCl	8	4	50		4	50		6	75	
2	0,2	Dibenamine	9	3	33	$p < 0,7$	0	0	$p < 0,025$	5	55	$p = 1$
	0,2	0,9% NaCl	9	4	45		4	45		5	55	
3	0,4	Dibenamine	11	6	55	$p < 0,1$	3	27	$p < 0,005$	7	65	$p < 0,05$
	0,4	0,9% NaCl	11	10	90		10	90		11	100	
4	0,4	Dibenzyline	11	3	27	$p < 0,1$	1	9	$p < 0,005$	5	45	$p < 0,2$
	0,4	0,9% NaCl	11	7	65		7	65		8	70	
Gesamt		Dibenamine oder Dibenzyline	39	12	31	$p < 0,005$	5	13	$p < 0,001$	17	45	$p < 0,005$
		0,9% NaCl	39	25	65		25	65		30	75	

spontan innerhalb 24 Stunden nach Endotoxininjektion. Das einzige überlebende Tier wies eine doppelseitige Nierenrindennekrose auf. Zehn der 11 Kontrolltiere hatten Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren, drei von diesen Tieren zeigten eine Nierenrindennekrose (Abb. 1). Das einzige Tier, bei dem keine Fibringerinnsel gefunden wurden, starb 3 Stunden nach Endotoxininjektion zu einer Zeit, da man gewöhnlich lichtmikroskopisch noch keine Fibringerinnsel nachweisen kann. Der früheste Zeitpunkt, zu dem Fibringerinnsel in dieser Gruppe lichtmikroskopisch nachgewiesen wurden, war 3 1/2 Stunden nach Endotoxininjektion.

Fünfundzwanzig Prozent der mit Dibenamine behandelten Ratten starben innerhalb 24 Stunden nach Endotoxininjektion. Ein überlebendes Tier wies eine Nierenrindennekrose auf. Andererseits zeigten nur 3 von 6 gestorbenen Tieren Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren, ein Zeichen dafür, daß sich in dieser Gruppe die Letaldosis und die "Shwartzman-aktive" Dosis des Endotoxins überschritten. Es wurde ein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens zwischen unbehandelten und behandelten Tieren festgestellt ($p < 0,005$). Blutungen und fokale Nekrosen in der Leber traten bei den mit Dibenamine behandelten Tieren seltener auf als bei unbehandelten Ratten ($p < 0,05$).

Gruppe 4 (0,4 mg Endotoxin). - Den Tieren dieser Gruppe wurde wie denen in Gruppe 3 0,4 mg Endotoxin verabreicht; es wurde jedoch eine andere Endotoxincharge des gleichen Endotoxins verwendet. Dies mag

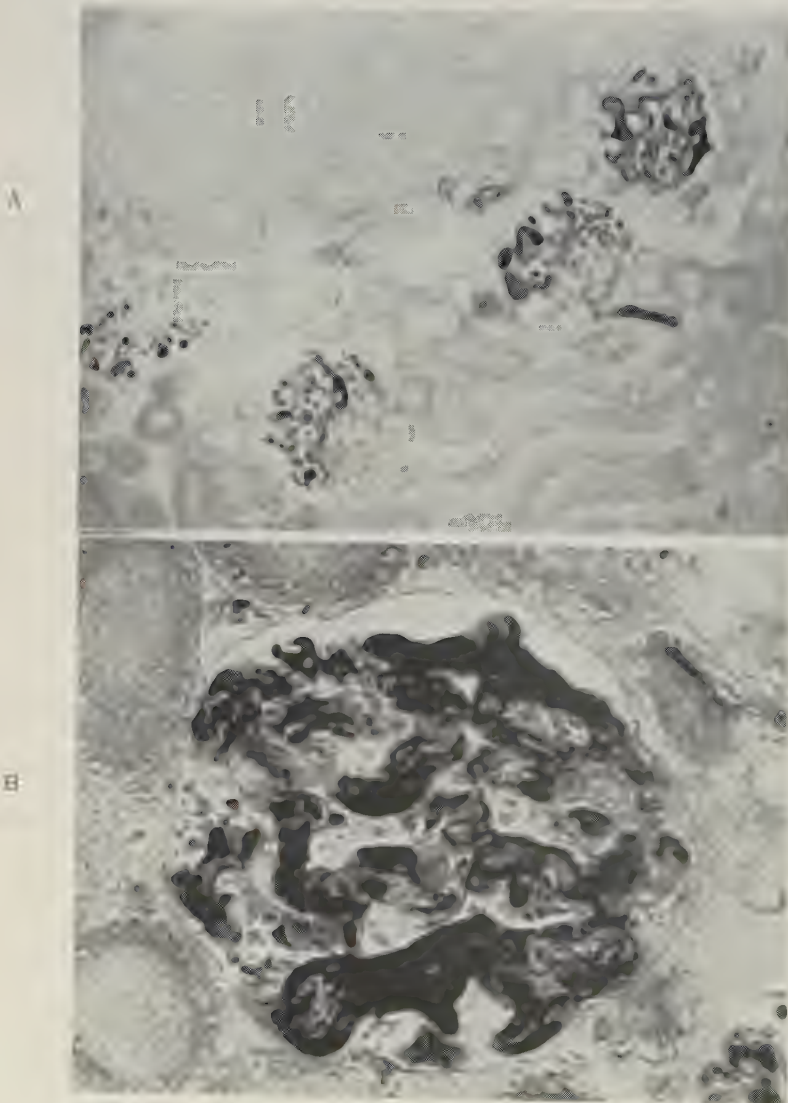


Abb. 1: Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren der Niere einer trächtigen Ratte, der 0,4 mg Endotoxin injiziert worden waren. Histochemie. A x 100; B x 400.

der Grund dafür sein, daß nur 65% der Tiere dieser Gruppe im Vergleich zu 90% in Gruppe 3 starben. Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen trat nur bei 65% der Kontrolltiere dieser Gruppe im Vergleich zu 90% der Kontrolltiere von Gruppe 3 auf. Bei überlebenden Tieren ließen sich keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren feststellen.

In dieser Gruppe wurde der Alpha-Rezeptorenblocker Dibenzyline verwendet. Dibenzyline hat einen ähnlichen Wirkungsmechanismus wie Dibenamine, ist aber 5 bis 6 mal wirkungsvoller (GOODMAN und GILMAN, 1967). Von 11 Tieren, die mit Dibenzyline vorbehandelt worden waren, und denen 1 Stunde später Endotoxin injiziert wurde, zeigte nur ein Tier Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren. Einunddreißig Prozent der mit Dibenzyline behandelten Tiere starben innerhalb 24 Stunden nach nach Endotoxininjektion. Dibenzyline konnte Blutungen und fokale Nekrosen in der Leber nicht signifikant beeinflussen ($p > 0,2$).

Faßt man die ersten 4 Gruppen (Tab. 1) zusammen, so kann festgestellt werden, daß Dibenamine und Dibenzyline die Überlebensrate von trächtigen Ratten, denen eine einmalige Endotoxininjektion verabreicht worden war, erhöht ($p < 0,005$). Diese Alpha-Rezeptorenblocker verhindern das Auftreten des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens der trächtigen Ratte ($p < 0,001$) und verminderten Blutungen und fokale Nekrosen in der Leber nach Endotoxininjektion ($p < 0,005$).

Gruppe 5 (0,4 mg Endotoxin). - Die Ergebnisse der gerinnungsanalytischen und fibrinolytischen Untersuchungen bei trächtigen Ratten, denen Endotoxin und Dibenzylglycyl-L-histidin-Di-Hydrochlorid bzw. physiologische Kochsalzlösung injiziert worden war, sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Da einige der Tiere, die Endotoxin und physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten, vor dem Zeitpunkt der Blutentnahme starben, wurden diese nicht in die Tabelle aufgenommen. Aus diesem Grunde kann aus Tab. 2 keine Schlußfolgerung über die Häufigkeit des Auftretens von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren bei den Tieren dieser Gruppe gezogen werden.

Physiologische Kochsalzlösung und Endotoxin (Gruppe 5 A und 5 B). - Bei den Tieren der Kontrollgruppe, denen physiologische Kochsalzlösung und Endotoxin injiziert worden war, fiel die Thrombocytenzahl unabhängig davon ab, ob die Tiere ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten oder nicht (Abb. 2). Bei Tieren, bei denen es zur Ausbildung von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren kam (SSP-positive Tiere), fiel die Plättchenzahl auf Werte um $76\,000/\text{mm}^3$ ab, während bei Tieren ohne Fibringerinnsel die Thrombocytenzahl 4 Stunden nach Endotoxininjektion um $451\,000/\text{mm}^3$ lag.

Der Fibrinogenspiegel verhielt sich ähnlich wie die Thrombocyten. Tiere mit Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren hatten einen durchschnittlichen Fibrinogenspiegel von 41 mg%, während bei Tieren ohne Fibringerinnsel (SSP-negativ) der Fibrinogenspiegel nur auf Werte um 227 mg% abfiel (Abb. 3).

Tab. 2: Veränderungen im Gerinnungs- und Fibrinolyse-System bei unterschiedlich behandelten trächtigen Ratten 4 Stunden nach Endotoxininjektion. (Aus: MÜLLER-BERGHaus, DAVIDSON und McKAY, 1967).

Gruppe	Behandlung	Endotoxin mg	Niere Fibrin- gerinnsel	Ratten No.	Plättchen $\times 10^3/\text{mm}^3$	p	Fibrinogen mg%	p	Plasminogen E./ml	p
5 A	0, 9% NaCl	0, 4	+	6	76 ± 39^x	$p < 0, 005$	41 ± 47	$p < 0, 001$	$5, 5 \pm 0, 7$	$p < 0, 025$
5 B	0, 9% NaCl	0, 4	—	9	451 ± 215	$p < 0, 1$	227 ± 95	$p < 0, 5$	$6, 8 \pm 1, 1$	$p < 0, 2$
5 C	Dibenzyl- line	0, 4	—	10	591 ± 200		256 ± 81		$7, 4 \pm 0, 6$	
5 D	Dibenzyl- line	0, 4	+	2	200		205 98		$6, 4$ $5, 5$	
6	0, 9% NaCl	0	—	10	880 ± 167	$p < 0, 02^{xx}$	381 ± 85	$p < 0, 005^{xx}$	$7, 4 \pm 1, 1$	$p < 0, 005^{xx}$

^x $\pm$ Standardabweichung

^{xx} p zwischen Gruppe 5 C und 6

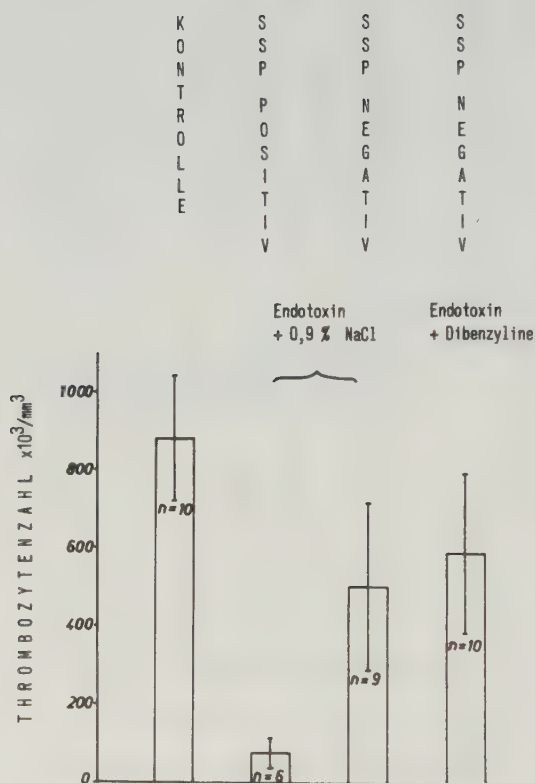


Abb. 2: Veränderungen der Thrombocytenzahl bei trächtigen Ratten 4 Stunden nach Injektion von Endotoxin bzw. physiologischer Kochsalzlösung (Kontrolle). Sowohl bei Tieren ohne glomeruläre Fibringerinnung (SSP-negativ) als auch bei Tieren, die wegen Dibenzylamine-Vorbehandlung kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten, kam es zu einem signifikanten Abfall der Thrombocytenzahl, aber nicht so ausgeprägt wie bei Ratten mit glomerulären Fibringerinnungen (SSP-positiv). Die Standardabweichung ist angegeben.

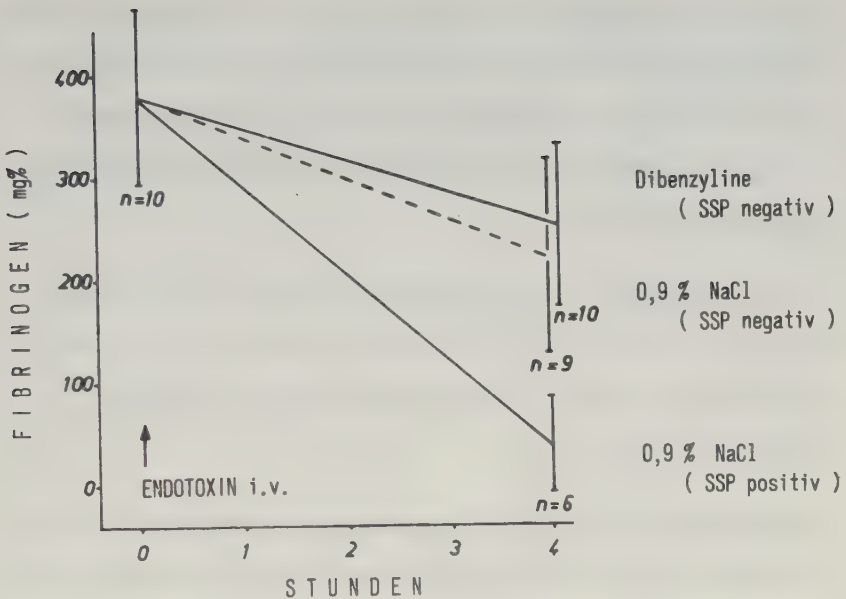


Abb. 3: Veränderungen des Fibrinogenspiegels 4 Stunden nach Endotoxininjektion bei trächtigen Ratten. Der Fibrinogenspiegel fiel sowohl bei Tieren ohne glomeruläre Fibringerinnsel (SSP-negativ) als auch bei Tieren ab, die wegen Dibenzyline-Vorbehandlung kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen (Dibenzyline, SSP-negativ) entwickelten. Bei Ratten mit glomerulären Fibringerinnseln wurden die niedrigsten Fibrinogenwerte gemessen. Die Standardabweichung ist eingezeichnet. (Aus: MÜLLER-BERGHaus, DAVIDSON und McKAY, 1967).

Dibenzyline und Endotoxin (Gruppe 5 C und 5 D). - Wenn Ratten mit Dibenzyline vorbehandelt worden waren, kam es bei den Tieren ohne Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren zu einem Abfall der Plättchenzahl auf Werte um $591\,000/\text{mm}^3$ (Abb. 2). Der Fibrinogenspiegel bei diesen Tieren fiel auf Werte um $256\text{ mg\%}$ (Abb. 3).

Es wurde kein signifikanter Unterschied ($p < 0,1$) in der Plättchenzahl oder dem Fibrinogenspiegel zwischen Tieren ermittelt, die durch Dibenzyl-linebehandlung vor dem Sanarelli-Schwartzman-Phänomen geschützt worden waren, und den Tieren der Kontrollgruppe, die kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten.

Zwei Tiere, bei denen es trotz Dibenzyl-linebehandlung zum Sanarelli-Schwartzman-Phänomen kam, wiesen ähnliche Thrombocytenwerte und Fibrinogenspiegel auf wie die Kontrolltiere mit positiver Sanarelli-Schwartzman-Reaktion (Tab. 2).

Plasminogenspiegel zeigten keine signifikanten Unterschiede mit Ausnahme der Tiere, die ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten. Hier fiel der Plasminogenspiegel von 7,4 Einheiten/ml auf Werte um 5,5 Einheiten/ml (Tab. 2 und Abb. 4).

Gruppe 6. - In dieser Gruppe wurden zu Vergleichszwecken mit Gruppe 5 Plättchenzahl, Fibrinogen- und Plasminogenspiegel bei trächtigen Ratten bestimmt, die nur physiologische Kochsalzlösung anstelle von Endotoxin erhalten hatten.

In vitro-Versuche. - Der direkte Einfluß von Dibenzyl-line auf die Rekalzifizierungszeit von plättchenreichem Plasma sollte bestimmt werden. Dibenzyl-linekonzentrationen, die etwa den in vivo-Konzentrationen entsprachen bzw. 3- oder 6ml höher lagen, beeinflussten die Rekalzifizierungszeit nicht entscheidend (Tab. 3). Die verwendete Dibenzyl-linekonzentration

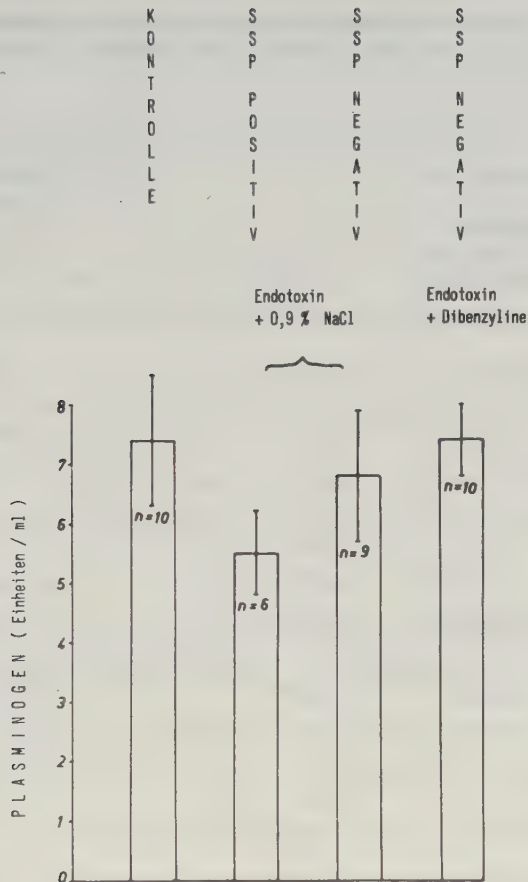


Abb. 4: Veränderungen des Plasminogenspiegels bei trächtigen Ratten, denen Endotoxin und physiologische Kochsalzlösung bzw. Endotoxin und Dibenzyläine 4 Stunden vor der Blutabnahme injiziert worden war. Nur bei Tieren, die ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten (SSP-positiv), kam es zu einem signifikanten Plasminogenabfall. Die Standardabweichung ist angegeben.

Tab. 3: Gerinnungszeiten von rekalkifiziertem plättchenreichem Rattenplasma, dem Dibenzylamine in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wurde.

Dibenzylamine		Physiologische Kochsalzlösung
Endkonzentration in 1 ml Reaktions- mischung		
mg	Sek.	Sek.
0,055	60	58
	61	58
	58	60
Mittelwert	60	59
0,166	68	71
	62	63
	64	58
Mittelwert	65	64
0,333	66	55
	59	55
	66	59
Mittelwert	64	56

in vivo wurde mit ungefähr 0,05 mg/ml Blut ermittelt.

Besprechung der Ergebnisse

Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen wird durch einen disseminierten intravasalen Gerinnungsprozeß vermittelt. Der intravasale Gerinnungsprozeß wird durch einen bisher nicht näher bekannten Auslösungsmechanismus in Gang gesetzt. Alleinige intravasale Gerinnung führt aber nicht zum Sanarelli-Shwartzman-Phänomen. Voraussetzung für die Ausbildung dieses Phänomens, d. h. für den Verschluß der Glomerulumkapillaren mit Fibringerinnseln, ist es aber, daß die Tiere "präpariert" worden sind. Trächtigkeit stellt eine Möglichkeit der Präparation dar. MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY (1964) konnten Beweise anführen, daß während der Trächtigkeit die Aktivierung des fibrinolytischen Systems gehemmt ist und daß dieser Mechanismus eine Möglichkeit der Präparation für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen darstellt. Verabreicht man einem nicht trächtigen Tier Epsilon-Aminocaprinsäure oder Trasylol, Substanzen, die die Fibrinolyse lokal und generalisiert hemmen können, so kann man bei so behandelten nicht trächtigen Kaninchen oder Ratten durch einmalige Endotoxininjektion oder Thrombininfusion das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen auslösen (LEE, 1962; MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY, 1964; BELLER, MITCHELL und GORSTEIN, 1967; PHILLIPS, MARGARETTEN und McKAY, 1968).

Außer der Hemmung bzw. verminderten Aktivierbarkeit des fibrinolytischen Systems scheinen noch weitere sog. Zusatzmechanismen für die Ausbildung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens verantwortlich zu sein. McKAY und MERRIAM (1960), McKAY und ROWE (1960), GALTON, WONG und McKAY (1960) sowie WONG, GALTON und McKAY (1961) beschrieben vasomotorische Veränderungen der Glomerulumkapillaren während des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens. Diese Veränderungen wurden frühestens 3 bis 4 Stunden nach "auslösender" Endotoxininjektion bei unterschiedlich für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen "präparierten" Tieren beobachtet, zu einem Zeitpunkt also, wenn Fibrin sich in den Glomerulumkapillaren anzuhäufen beginnt. Die Tiere waren durch Trächtigkeit, Cortison, Thorotrast oder Endotoxin für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen "präpariert" worden. Unsere Untersuchungen bei trächtigen Ratten zeigen, daß durch Vorbehandlung der Tiere mit Dibenamine oder Dibenzylamine das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen verhindert werden kann. Die wahrscheinlichste Erklärung für diese Verhinderung des Phänomens liegt in der Blockade der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems, durch die der Effekt der Katecholamine vermittelt wird. Katecholaminfreisetzung nach Endotoxininjektion ist u. a. von EGDAHL (1959) sowie ROSENBERG et al. (1959) beschrieben worden. In gleicher Weise können Befunde von HUTH und KARLICZEK (1968) gedeutet werden, die das Auftreten eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens beim Kaninchen, ausgelöst durch Doppelinjektion von Endotoxin, durch Vorbehandlung der Tiere mit den Antisymphotonika Reserpin und

Guanethidin vermindern konnten.

Auch eine Rezeptorhemmung für Serotonin (ERSPAMER und SALA, 1954) könnte zur Erklärung unserer Befunde herangezogen werden, da Blutplättchen nach Inkubation mit Endotoxin (DES PREZ, HOROWITZ und HOOK, 1961) oder nach Endotoxininjektion (SHIMAMOTO et al., 1958; WEBER, MALESSA und LASCH, 1963) Serotonin in das umgebende Milieu freisetzen. Diese mögliche Erklärung scheint jedoch wenig wahrscheinlich, da durch Infusion von äquivalenten Mengen Serotonin keine vasomotorische Reaktion in der Niere erzeugt werden konnte, die zur Auslösung eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens nach einmaliger Endotoxininjektion führte (unveröffentlichte Ergebnisse).

Die Wirkung von Dibenzylamine könnte aber auch darauf beruhen, daß dieser Substanz direkt oder auch indirekt eine gerinnungshemmende Eigenschaft zukommt. Diese Möglichkeit mußte ausgeschlossen werden, da mit Heparin (GOOD und THOMAS, 1953) oder Cumarinderivaten (SHAPIRO und McKAY, 1958) das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen verhindert werden konnte. Unsere in vitro-Versuche zeigten, daß Dibenzylamine die Rekalkifizierungszeit von plättchenreichem Plasma nicht hemmt. Wie beobachtet wurde, ist das Ausmaß der intravasalen Gerinnung nach Endotoxininjektion bei Tieren, die mit Dibenzylamine vorbehandelt waren, jedoch signifikant vermindert. Dieser Befund könnte darauf hinweisen, daß die Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems teilweise für den intravasalen Gerinnungsprozeß verantwortlich ist, der

sich in der Niere abspielt. Es ist seit den Untersuchungen von McKAY und SHAPIRO (1958) sowie KLEINMAIER et al. (1959) bekannt, daß sowohl Gerinnungsfaktoren als auch Blutplättchen durch den intravasalen Gerinnungsprozeß dem strömenden Blut entzogen werden. Dibenzyline konnte die intravasale Gerinnung nach Endotoxininjektion bei trächtigen Ratten nicht völlig verhindern, da sowohl Plättchenzahl als auch Fibrinogenspiegel um ungefähr 30% abfielen.

Weiterhin mußte die Möglichkeit ausgeschlossen werden, daß Dibenzyline das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen durch Aktivierung des fibrinolytischen Systems verhindert. KLIMAN und McKAY (1958) sowie LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und WESTENHOEFER (1961) zeigten die Möglichkeit auf, das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen durch Aktivierung des fibrinolytischen Systems mit Streptokinase zu verhindern. Weiterhin trägt Trächtigkeit gemäß den Untersuchungen von MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY (1964) durch verminderte Aktivierbarkeit des fibrinolytischen Systems dazu bei, daß Fibrinthromben in den Nieren trächtiger Tiere viel schlechter wieder lysiert werden als in denen nicht trächtiger Tiere. Diese Möglichkeit scheint nicht in Betracht zu kommen, da wir keinen Abfall des Plasminogenspiegels bei Tieren beobachteten, die durch Vorbehandlung mit Dibenzyline vor der Ausbildung von Fibringerinnenseln in den Glomerulumkapillaren geschützt waren. Vielmehr wurde nur bei Kontrolltieren, die ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen entwickelten, ein signifikanter Plasminogenabfall festgestellt.

2. Untersuchungsreihe: Die Wirkung von Noradrenalin auf die Entstehung von Fibringerinnse- n in den Glomerulumkapillaren nach einmaliger Endotoxininjek- tion beim Kaninchen

Versuchsanordnung

Sechzehn nicht narkotisierten Kaninchen wurde 0,4 mg Endotoxin verabreicht. Unmittelbar danach wurde 8 Kaninchen Noradrenalin infundiert, und zwar 1,25 $\mu\text{g/kg/min}$ über 3 1/4 Stunden und 2,5 $\mu\text{g/kg/min}$ über die letzte 3/4 Stunde. Zusätzlich wurde den Kaninchen 140 ml sterile, pyrogenfreie physiologische Kochsalzlösung pro Stunde infundiert. Acht Kontrolltieren wurde Endotoxin und physiologische Kochsalzlösung, aber kein Noradrenalin verabreicht. Alle Tiere wurden 4 Stunden nach der Endotoxininjektion getötet.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Kaninchen, die eine einmalige Endotoxininjektion und zusätzlich eine Infusion größerer Flüssigkeitsmengen erhalten hatten, zeigten keine Fibringerinnse-
n in den Glomerulumkapillaren. Wenn die Kaninchen im Anschluß an die Endotoxininjektion noch zusätzlich Noradrenalin erhielten, wiesen 5 von

8 Tieren Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf.

Tab. 4: Häufigkeitsrate von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren der Kaninchenniere nach einmaliger Endotoxininjektion und anschließender Infusion von Noradrenalin bzw. physiologischer Kochsalzlösung (Kontrolle).

Endotoxin mg	Infusion	Kaninchen No.	Häufigkeitsrate von Fibringerinnseln in der Niere
0,4	Noradrenalin	8	5/8
0,4	0,9% NaCl	8	0/8

Besprechung der Ergebnisse

In der 1. Untersuchungsreihe wurde gezeigt, daß das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen durch Hemmung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems verhindert werden kann. Andererseits ist bekannt, daß alleinige Aktivierung des Gerinnungssystems, so z. B. durch Thrombininfusion, kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auslöst (LEE, 1962). Nach einmaliger Endotoxininjektion werden zwar Fibringerinnsel in den Kapillaren, Arteriolen und Venolen von Lunge, Leber und Milz gefunden (APITZ, 1935; GERBER, 1936; BRUNSON, GAMBLE und THOMAS,

1955; McKAY und SHAPIRO, 1958); es kommt jedoch nach alleiniger Endotoxininjektion fast nie zur Fibrinpräzipitation in den Glomerulumkapillaren der Niere und damit zu keiner Ausbildung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens (McKAY, 1966).

In einem Experimentum crucis sollte untersucht werden, ob Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems bei gleichzeitiger Injektion von Endotoxin zum Sanarelli-Shwartzman-Phänomen führt. Durch Infusion von Noradrenalin im Anschluß an eine einmalige Endotoxininjektion konnten Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden. Offensichtlich wirken Noradrenalin und Endotoxin synergistisch bei der Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens. Zusätzlich zu der Wirkung als Pressoramin kann Noradrenalin eine reversible Plättchenaggregation hervorrufen (O'BRIEN, 1964). Beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen könnte Noradrenalin über eine Veränderung der Nierengefäßmotorik und nachfolgende Störung der Mikrozirkulation zur Präzipitation von Fibrin in den Glomerulumkapillaren führen. Man kann demnach annehmen, daß es nur dann zur manifesten intravasalen Gerinnung kommt, wenn Hyperkoagulabilität und veränderte Blutströmung in Kombination auftreten.

Theoretisch bestehen weitere Möglichkeiten, wie Katecholamine einen synergistischen Effekt bei der Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens ausüben könnten. Katecholamine haben u. a. einen Einfluß auf den Kohlehydrat- sowie Fettstoffwechsel, auf die Blutgerinnung selbst

und auf Gefäßwand und Kreislauf. Diese Möglichkeiten können aber auf Grund der Versuche von PALMERIO et al. (1962) ausgeschlossen werden: Die Autoren durchtrennten den Sympathikus an einer Niere vor Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens. Nach "auslösender" Endotoxininjektion kam es an der denervierten Niere zu keiner Nierenrindennekrose, während die andere Niere desselben Tieres eine Nierenrindennekrose entwickelte. Diese Versuche lassen den Schluß zu, daß Stimulierung der Alpha-Rezeptoren in der Niere selbst für die Ablagerung des Fibrins verantwortlich ist. Katecholamine bewirken an der Niere eine ausgesprochene Reduktion der renalen Blutzirkulation und der glomerulären Filtrationsrate, bzw. nach den Untersuchungen von TRUETA et al. (1947) wird nach Katecholamininfusion die Nierenrinde schlechter als die Medulla mit Blut versorgt. Ob hierin ein Effekt der Katecholamine bei der Lokalisierung des Fibrins liegt, kann noch nicht beantwortet werden.

II. Die Rolle des Plättchenfaktor 3 für die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens

Vorbemerkungen

Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen wird durch einen intravasalen Gerinnungsprozeß verursacht, in dessen Verlauf es zum Aktivitätsverlust fast aller Gerinnungsfaktoren kommt (McKAY und SHAPIRO, 1958; KLEIN-MAIER et al., 1959). An dem Gerinnungsprozeß scheinen die Blutplättchen immer beteiligt zu sein, da die Plättchenzahl im Verlauf des Phänomens erheblich abfällt (GRATIA und LINZ, 1932; McKAY und SHAPIRO, 1958; LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE, 1960). Fernerhin verlieren die Blutplättchen während des Phänomens ihren Thrombocytenfaktor 3 (LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE, 1960), der in erhöhter Konzentration im plättchenarmen Plasma wiedergefunden werden kann (HOROWITZ, DES PRÉZ und HOOK, 1962). Offensichtlich macht ein Teil der Blutplättchen im Verlauf des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens Veränderungen durch, die man als visköse Metamorphose bezeichnet (EBERTH und SCHIMMELBUSCH, 1886). Sie kann sich morphologisch als Schwellung, Aggregation, Degranulation, Pseudopodienbildung und biochemisch im Zusammenbruch des intermediären Stoffwechsels nach Freisetzung von Adeninnukleotiden und pharmakologisch aktiven Aminen (Serotonin und Adrenalin) manifestieren (LÜSCHER, 1967). Morphologische Veränderungen der Blutplättchen beim Sanarelli-Schwartz-

man-Phänomen sind mittels Elektronenmikroskopie beobachtet worden (McKAY, MARGARETTEN und CSAVOSSY, 1966; McKAY, 1966). Ebenso ist der Verlust der Plättchen an Adeninnukleotiden bei diesem Phänomen beschrieben worden (WEBER, MALESSA und LASCH, 1963).

SHIMAMOTO et al. (1958) beobachteten eine Freisetzung von Serotonin aus den Blutplättchen nach intravenöser Endotoxininjektion. In vitro-Versuche führten zu ähnlichen Ergebnissen. Wenn Plättchen mit Endotoxin inkubiert wurden, kam es zur Aggregation der Plättchen und Freisetzung von Plättchenfaktor 3 in das umgebende Medium (DES PREZ, HOROWITZ und HOOK, 1961). Durch diese Freisetzungsreaktion wurde Plättchenfaktor 3 für die Gerinnung verfügbar gemacht, was sich in einer Verkürzung der Gerinnungszeit von plättchenreichem Plasma ausdrückt.

Diese Beobachtungen machten es wahrscheinlich, daß der intravasale Gerinnungsprozeß beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen durch die Freisetzung von Plättchenfaktor 3 nach intravenöser Endotoxininjektion eingeleitet wird. Wir versuchten deshalb, durch Infusion von gereinigtem Plättchenfaktor 3 bzw. von Phospholipiden mit Plättchenfaktor 3-ähnlicher Aktivität ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen auszulösen.

3. Untersuchungsreihe: Infusion von Plättchenfaktor 3 bei Kaninchen und Ratten

Versuchsanordnung

Versuche wurden an Kaninchen und Ratten durchgeführt. Die Kaninchen wurden in folgende Gruppen aufgeteilt:

Gruppe I: Vierundzwanzig Stunden vor "Auslösung" des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens war den Tieren dieser Gruppe Thorotrast (3 ml/kg) intravenös injiziert worden. Sechs Tieren (Kontrolltiere) wurde am Versuchstag 0,05 mg Endotoxin intravenös verabreicht, während 3 Tieren 10 ml Inosithin über eine Zeitspanne von 15 Minuten infundiert wurde. Zwei Tiere erhielten 2 ml des konzentrierten gereinigten Plättchenfaktor 3, verdünnt in 50 ml physiologischer Kochsalzlösung. Einem Tier wurde die doppelte Menge des gereinigten Plättchenfaktor 3, ebenfalls in 50 ml verdünnt, infundiert. Die Infusionsdauer betrug 4 Stunden. Alle Kaninchen wurden, falls sie nicht spontan gestorben waren, 24 Stunden nach Endotoxininjektion bzw. Infusionsbeginn getötet.

Gruppe II: Zwanzig Kaninchen wurden durch intravenöse Injektion von Thorotrast (3 ml/kg) für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen "vorbereitet". Vier Stunden später erhielten 11 Tiere dieser Gruppe eine intravenöse Injektion von 0,05 mg Endotoxin (Kontrolltiere); 4 Tieren wurde 30 ml Thrombofax über 2 Stunden infundiert; 5 Tieren wurden 30 ml

Inosithin (1 mg/ml) über 3 Stunden infundiert. Überlebende Kaninchen wurden 24 Stunden nach Endotoxininjektion bzw. Infusionsbeginn getötet.

Gruppe III: Sechzehn Kaninchen wurden durch intravenöse Injektion von 0,2 mg Endotoxin für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen "vorbereitet". Vierundzwanzig Stunden später wurde bei 12 Kaninchen (Kontrolltiere) durch eine abermalige intravenöse Injektion von 0,2 mg Endotoxin das Phänomen "ausgelöst", während 4 weiteren Tieren 30 ml Thromboxan über 2 Stunden infundiert wurden. Überlebende Tiere wurden 24 Stunden nach "auslösender" Endotoxininjektion bzw. nach Infusionsbeginn getötet.

Gruppe IV: Zwanzig Kaninchen (Kontrolltiere) wurde simultan Ellagsäure (Konzentration: 0,24 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 105 ml/Std.), Epsilon-Aminocaprinsäure (Konzentration: 50 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 11,5 ml/Std.) und Noradrenalin in drei verschiedenen Konzentrationen (vgl. Tab. 6) verabreicht. In der Versuchsgruppe erhielten 12 Tiere Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin wie die Kontrolltiere. Anstelle der Ellagsäure wurde den Tieren der Versuchsgruppe Inosithin (Konzentration: 1 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 11,5 ml/Std.) infundiert. Zusätzlich erhielten sie sterile, pyrogenfreie physiologische Kochsalzlösung, so daß allen Tieren die gleichen Volumina pro Zeiteinheit infundiert wurden.

Weibliche Ratten wurden in 2 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe V: Dreizehn Ratten wurde 150 mg EACA in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung 10 Minuten vor und 20 Minuten nach Infusionsbeginn intraperitoneal injiziert. Fünf Ratten (Kontrolltiere) wurden 1,2 Einheiten Thrombin pro Minute mittels eines Schwanzvenenkatheters über eine Stunde infundiert. Acht Ratten erhielten außer EACA verschiedene käufliche Gehirnextrakte oder Inosithin (vgl. Tab. 7). Alle Ratten wurden 1 Stunde nach Infusionsbeginn getötet.

Gruppe VI: Bei 9 trächtigen Ratten wurde das Experiment am 20. Tag der Gestation durchgeführt. Fünf Tieren wurden 1,2 Einheiten Thrombin pro Minute über 30 Minuten infundiert (Kontrolltiere). Vier trächtige Ratten erhielten anstelle der Thrombininfusion 4 ml Thrombofax über 30 Minuten. Alle Tiere wurden 1 Stunde nach Infusionsbeginn getötet.

Ergebnisse

Zur Bestimmung der Plättchenfaktor-3-Aktivität von Kaninchenplättchen im Verhältnis zu Inosithin, einer Sojabohnen-Phospholipidpräparation, und gereinigtem Rinderplättchenfaktor 3 wurde der Thromboplastinbildungstest angewendet. Abbildung 5 zeigt Verdünnungskurven dieser Substanzen.

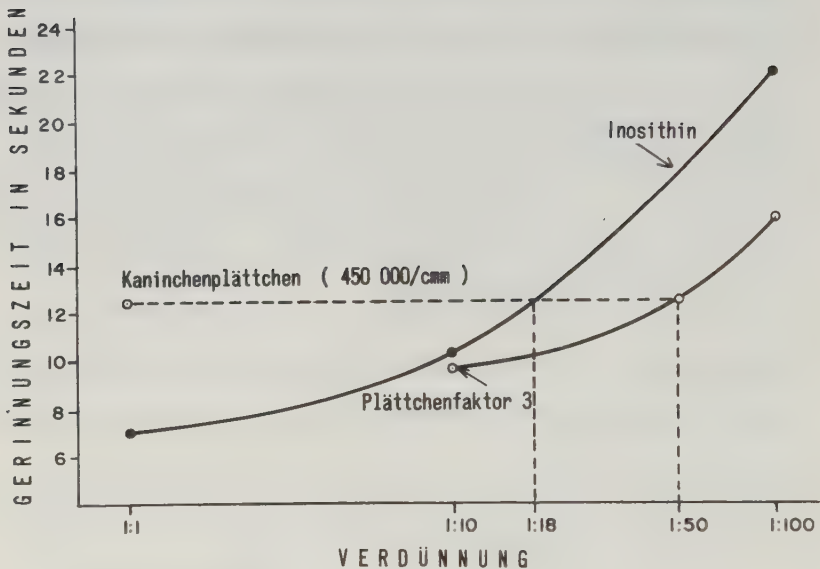


Abb. 5: Verdünnungskurven von Inosithin und gereinigtem Plättchenfaktor 3. Die kürzeste im Thromboplastinbildungstest gemessene Gerinnungszeit wurde als Bezugspunkt verwendet. Ein vorgegebenes Volumen zertrümmerter Kanincenthrombocyten ($450\,000/\text{mm}^3$) entsprach dem gleichen Volumen Inosithin, wenn dieses 1:18 verdünnt, oder dem gleichen Volumen an gereinigtem Plättchenfaktor 3, wenn dieser 1:50 verdünnt wurde (Aus: MÜLLER-BERGHAUS et al., 1967).

Folgende Berechnungen, basierend auf Verdünnungskurven, wie sie in Abbildung 5 wiedergegeben sind, wurden angestellt:

Kaninchengewicht z. B.	2 kg
Blutvolumen dieses Kaninchens	200 ml
Plättchenzahl im Blut	450 000/mm ³
Gesamtplättchenzahl im zirkulierenden Blut	90x10 ⁹

Beziehungspunkte auf den Verdünnungskurven wurden wie folgt aufgestellt: Ein Teil fragmentierter Plättchensuspension (z. B. 450 000 Plättchen/mm³) entspricht demselben Volumen des gereinigten Plättchenfaktor 3, wenn dieser 1:50 verdünnt wird; oder die Aktivität von 450x10⁶ Plättchen (in 1 ml Blut) stimmt mit 0,02 ml der gereinigten Plättchenfaktor-3-Präparation überein. Demnach hat ein Kaninchen (2 kg schwer, 90x10⁹ Plättchen) eine gesamte Plättchenfaktor 3-Aktivität, die 4 ml der gereinigten Plättchenfaktor 3-Präparation entspricht. Vier Milliliter des gereinigten Plättchenfaktor 3 wurden aus ungefähr 1,5 l plättchenreichem Plasma gewonnen. Die gesamte Plättchenfaktor 3-Aktivität eines Kaninchens (90x10⁹ Plättchen) entsprach ungefähr 11,5 ml Inosithin, wenn der Thromboplastinbildungstest zu Vergleichszwecken angewendet wurde.

Diese Werte wurden zum Vergleich herangezogen, um einen Anhalt dafür zu gewinnen, wieviel Plättchenfaktor 3 infundiert werden konnte, um noch in vertretbaren physiologischen Grenzen zu bleiben. Selbst-

verständlich kann man diese errechneten Werte nicht als Absolutzahlen verwenden, da es keinen sicher verlässlichen Nachweis für Plättchenfaktor 3 gibt, und da die genauen Angriffspunkte bzw. die Rolle des Plättchenfaktor 3 im Gerinnungssystem noch nicht bekannt sind. Der Thromboplastinbildungstest muß als ein recht unphysiologisches Bestimmungssystem aufgefaßt werden. Verwendet man die partielle Thromboplastinzeit als Testsystem anstelle des Thromboplastinbildungstests, dann weist eine Suspension fragmentierter Plättchen weniger Aktivität als gereinigter Plättchenfaktor 3 auf. Unter den Bedingungen der partiellen Thromboplastinzeit entspricht 1 ml der gereinigten Plättchenfaktor 3-Präparation 11 ml Inosithin, während im Thromboplastinbildungstest 1 ml des gereinigten Plättchenfaktor 3 die gleiche Aktivität aufweist wie 2,9 bis 3,3 ml Inosithin.

Tabelle 5 (Spalte 6) gibt die verschiedenen relativen Mengen der Plättchenfaktor 3-Aktivität wieder, die den Kaninchen infundiert wurden. Mit Inosithin (85%) oder gereinigtem Rinderplättchenfaktor 3 (50 und 100%) konnte das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen nicht ausgelöst werden. Keines der Tiere, die durch Injektion von Thorotrast (Gruppe II) oder Endotoxin (Gruppe III) "präpariert" worden waren, entwickelte ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen, wenn Thrombofax (ungefähr 260% Plättchenfaktor 3-Aktivität) zur "Auslösung" infundiert wurde. Ebenso wies kein Tier, das mit Thorotrast "präpariert" worden war, nach der Infusion von Inosithin (260%) Fibringerinnsel in Niere oder anderen Or-

Tab. 5: Häufigkeitsrate des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens bei Kaninchen, die durch unterschiedliche Agenzien "vorbereitet" wurden. Die "auslösende" Endotoxininjektion wurde durch verschiedene Substanzen mit Plättchenfaktor-3-Aktivität ersetzt. (Aus: MÜLLER-BERGHAS, GOLDFINGER, MARGARETTEN und MCKAY, 1967).

Gruppe	Präparation (a)	Auslösung (b)	Zeit zwischen (a) und (b)	Auslösende Dosis Absolute Menge Relative Menge der gesamten Plättchen- faktor-3- Aktivität	Dauer der auslösenden Infusion	Kaninchen No.	Kaninchen mit glomerulären Fibrin- gerinnseln No.
I	Thorotrast	Endotoxin	24	0,05 mg -	-	6	4
	Thorotrast	Inosithin	24	10 ml 85%	15 min	3	0
	Thorotrast	Tzf 3 ^x	24	50 ml 50%	4 Std	2	0
	Thorotrast	Tzf 3	24	50 ml 100%	4 Std	1	0
II	Thorotrast	Endotoxin	4	0,05 mg -	-	11	11
	Thorotrast	Thrombofax	4	30 ml 260%	2 Std	4	0
	Thorotrast	Inosithin	4	30 ml 260%	3 Std	5	0
III	Endotoxin	Endotoxin	24	0,2 mg -	-	12	11
	Endotoxin	Thrombofax	24	30 ml 260%	2 Std	4	0

^xTzf 3 = Plättchenfaktor 3

ganen auf. Diese Tiere überlebten alle und wurden 24 Stunden nach Beginn der Infusion getötet. Die meisten Kontrolltiere der Gruppe I, II und III starben innerhalb 24 Stunden nach der "auslösenden" Endotoxininjektion. In Gruppe I wiesen 4 von 6, in Gruppe II 11 von 11 und in Gruppe III 11 von 12 Tieren Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf. Glomeruläre Fibringerinnsel wurden als positive Reaktion gewertet.

Die Beobachtung, daß Katecholamine bei der Ausbildung von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren eine Rolle spielen, machte es wahrscheinlich, daß Substitution des Endotoxins durch Plättchenfaktor 3 (Aktivierung des Gerinnungssystems) und Epsilon-Aminocaprinsäure (Hemmung des fibrinolytischen Systems) nicht alle Effekte des Endotoxins imitieren kann, die zur Ausbildung von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren notwendig sind (MÜLLER-BERGHAUS und McKAY, 1967). Aus diesem Grund wurde den Tieren neben Inosithin und Epsilon-Aminocaprinsäure noch zusätzlich Noradrenalin infundiert unter der Vorstellung, daß Inosithin das Gerinnungssystem aktiviert, Noradrenalin die Vasomotorik der Gefäße zur Lokalisation von Fibrin in den Glomerulumkapillaren ändert und Epsilon-Aminocaprinsäure einmal entstandenes Fibrin vor der Lyse bewahrt. Tabelle 6 zeigt, daß keines von 12 Kaninchen, denen Inosithin, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin in steigender Konzentration verabreicht wurde, glomeruläre Fibringerinnsel am Ende der Infusion aufwies. Die infundierten Noradrenalinmengen vermochten Fibringerinnsel nach Endotoxininjektion hervorzurufen, wie bereits gezeigt wurde (vgl. S. 48). Wenn Kontrolltieren

anstelle von Inosithin Ellagsäure infundiert wurde, so wiesen 11 von 20 so behandelten Kaninchen glomeruläre Fibringerinnsel am Ende der 4 1/2 stündigen Infusionsdauer auf (Tab. 6). Ellagsäure aktiviert den Hageman-Faktor in vitro wie auch in vivo, worauf im dritten Teil dieser Arbeit näher eingegangen wird.

Ratten der Gruppe V und VI (Tab. 7) wurden durch Epsilon-Aminocapronsäure oder Trächtigkeit für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen "vorbereitet". Bei 8 Tieren, die Epsilon-Aminocapronsäure zur "Präparation" erhielten, konnten durch Infusion verschiedener Agenzien mit Plättchenfaktor 3-Aktivität, wie mit Thromboxan, Hyland Partial Thromboplastin oder Inosithin, keine glomerulären Fibringerinnsel erzeugt werden. Von 5 Kontrolltieren, die Epsilon-Aminocapronsäure zur "Präparation" und Thrombin zur "Auslösung" der Reaktion erhalten hatten, wiesen alle Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf.

Die Tiere der Gruppe VI waren trächtig. Trächtigkeit stellt eine Form der "Präparation" für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen dar (WONG, 1962). Bei keinem dieser Tiere konnte nach Infusion von Thromboxan Fibrin in den Nierenkapillaren gefunden werden, während bei allen 5 Kontrolltieren, die Thrombin anstelle von Thromboxan erhalten hatten, Fibringerinnsel gefunden wurden.

Tab. 6: Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens durch Infusion von Inosithin, Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure (EACA) und Noradrenalin beim Kaninchen. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHÄUS und CRUSE, 1969).

Gruppe	Inosithin	Ellagsäure	EACA	Noradrenalin µg/kg/min	Dauer der Infusionen Std.	Kaninchen No.	Häufigkeitsrate der Kaninchen mit glomerulären Fibringerinnseln
IV A	-	+	+	1,25	4,5	4	3/4
	-	+	+	2,40	4,5	6	1/6
	-	+	+	1,25	3,25	} 10	} 11/20
				1,88	0,5		
				2,50	0,75		7/10
IV B	+	-	+	1,25	4,5	2	0/2
	+	-	+	2,40	4,5	5	0/5
	+	-	+	1,25	3,25	} 5	} 0/12
				1,88	0,5		
				2,50	0,75		0/5

Tab. 7: Häufigkeitsrate des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens bei der Ratte. Die "auflösende" Thrombininfusion wurde durch verschiedene Substanzen mit Plättchenfaktor-3-Aktivität ersetzt. (Aus: MÜLLER-BERGHÄUS, GOLDFINGER, MARGARETTEN und McKAY, 1967).

Gruppe	Präparation	Auslösung	Auslösende Dosis	Dauer der auslösenden Infusion	Ratten No.	Ratten mit glomerulären Fibrin-gerinnseln No.
V	EACA ^x	Thrombin	72-80 Einh.	1 Std.	5	5
	EACA	Thrombofax	4 ml	1 Min.	4	0
	EACA	Hyland PT ^{xx}	3 Amp.	1 Min.	1	0
	EACA	Hyland PT	6 Amp.	1 Min.	1	0
	EACA	Hyland PT	24 Amp.	1 Std.	1	0
	EACA	Inosithin	10 ml	1 Std.	1	0
VI	Trächtigkeit	Thrombin	36-40 Einh.	30 Min.	5	5
	Trächtigkeit	Thrombofax	4 ml	30 Min.	4	0

^x Epsilon-Aminocapronsäure; ^{xx} Hyland Partial Thromboplastin

Besprechung der Ergebnisse

McKAY, SHAPIRO und SHANBERGE (1958) zeigten, daß Inkubation von Blut oder plättchenreichem Plasma mit Endotoxin zu einer Verkürzung der Gerinnungszeit in silikonierten Gefäßen führt. Die Autoren deuteten diesen Befund dahin, daß Plättchen für den Verkürzungseffekt der Silikon-Gerinnungszeit verantwortlich sind, da im plättchenarmen Plasma, wie auch HOROWITZ (1964) nachwies, kein Verkürzungseffekt des Endotoxins auf die Rekalzifizierungszeit zu erzielen war. DES PREZ, HOROWITZ und HOOK (1961) beschrieben, daß Inkubation von plättchenreichem Plasma mit Endotoxin zur Plättchenaggregation und Freisetzung von Plättchenfaktor 3 in das umgebende Medium führt. Diese Ergebnisse der in vitro-Experimente wurden unter in vivo-Bedingungen bestätigt. Thrombocytopenie nach intravenöser Endotoxininjektion ist ein gut belegter Befund (GRATIA und LINZ, 1932; STETSON, 1951; McKAY und SHAPIRO, 1958; KLEINMAIER et al., 1959). LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE (1960) beschrieben einen Abfall der Plättchenfaktor 3-Aktivität bei Plättchen, die im Verlauf des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens gewonnen wurden, während HOROWITZ, DES PREZ und HOOK (1962) eine erhöhte Plättchenfaktor 3-Aktivität im plättchenarmen Plasma nach Endotoxininjektion nachwiesen. Diese Befunde scheinen den Schluß zu erlauben, daß die Plättchenaggregation und die Freisetzungsreaktion der Plättchen zumindest teilweise für die Hyperkoagulabilität nach intravenöser Endotoxininjektion verantwortlich sind. Abfall der Plättchenzahl

beobachtet man nämlich bereits 15 - 30 Sekunden nach Endotoxininjektion (DAVIS, MEEKER und McQUARRIE, 1960), ebenso wie eine Freisetzungsreaktion (HOROWITZ, DES PREZ und HOOK, 1962).

Aus diesem Grunde war es überraschend, daß die Substitution dieses genau umschriebenen Effekts von Endotoxin durch intravenöse Infusion von gereinigtem Plättchenfaktor 3 bzw. von ähnlich wirkendem partiellem Thromboplastin (Phospholipide aus Kaninchengehirn) oder von Sojabohnen-Phospholipiden, die im in vitro-Testsystem anstelle von Plättchenfaktor 3 verwendet werden können (HECHT, 1965), nicht zur Auslösung eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens führte. Diese Befunde stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen von RODRIGUEZ-ERDMANN (1965), der die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens durch Infusionen von gereinigtem Plättchenfaktor 3 bzw. durch die gleiche Sojabohnen-Phospholipidpräparation beschrieben hat. RODRIGUEZ-ERDMANN benutzte den gleichen gereinigten Plättchenfaktor 3 von MAMMEN aus Detroit und die gleichen Sojabohnen-Phospholipide (Inosithin) wie wir. Diese Diskrepanz der Ergebnisse kann nur dadurch zu erklären sein, daß RODRIGUEZ-ERDMANN eine von der unseren verschiedene Dosis in seinen Experimenten verwendete. Der Autor gibt in seiner Publikation weder die absoluten Mengen an Plättchenfaktor 3-Aktivität noch die Häufigkeitsrate an, wie oft das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ausgelöst werden konnte. In den vorgelegten Untersuchungen wurde Plättchenfaktor 3 in einer Aktivität bis zur dreifachen Menge infundiert,

die normalerweise in den Plättchen eines unbehandelten Kaninchens vorhanden ist.

Die von RODRIGUEZ-ERDMANN (1965) vorgelegten Befunde könnten zwar den Auslösungsmechanismus des intravasalen Gerinnungsprozesses beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen erklären, sie stehen aber, abgesehen von den an dieser Stelle vorgelegten Ergebnissen, im Widerspruch zu folgenden aus der Literatur entnommenen Daten: EPSTEIN und QUICK (1953) konnten keinen Abfall des Fibrinogenspiegels, also keine intravasale Gerinnung, hervorrufen, wenn "Plättchenextrakte in Mengen verabreicht wurden, die gleich groß waren oder bis 210% der Plättchenzahl im zirkulierenden Blut betrugen". Die Plättchenextrakte nach EPSTEIN und QUICK (1953) wiesen eine hohe Aktivität in vitro auf, wenn sie im Test des Prothrombinverbrauchs bzw. der partiellen Thromboplastinzeit eingesetzt wurden. Gemäß den Untersuchungen von HECHT, CHO und SEEGER (1958) konnten Mäuse weder mit ungefähr 2,8 mg gereinigtem Rinderplättchenfaktor 3 noch mit 2,8 mg Lipidaktivator der Plättchen oder dem Lipidanteil des Plättchenfaktor 3 getötet werden. Plättchenfaktor 3, Lipidaktivator und Lipidanteil der Plättchen haben Aktivitäten ähnlich dem sog. partiellen Thromboplastin; sie können im Thromboplastinbildungstest nach BIGGS, DOUGLAS und MACFARLANE (1953) anstelle von Plättchen verwendet werden. Wenn man Plättchenfaktor 3 zusammen mit gereinigtem Plättchencofaktor I (=Faktor VIII), Calciumionen und Ac-Globulin (Faktor V) auf nach SEEGER gereinig-

tes Prothrombin einwirken läßt, so kommt es zur Thrombinbildung.

" Da diese Kombination eine sehr starke Aktivität entwickelte, war es überraschend, daß die intravenöse Injektion von Plättchenfaktor 3 zusammen mit gereinigtem Plättchenfoktor I (= Faktor VIII) keinen letalen Effekt hatte " (HECHT, 1965).

Die Beobachtung, daß Katecholamine bei der Verlegung der Glomerulumkapillaren mit Fibringerinnseln eine Rolle spielen, ließ es möglich erscheinen, daß die Substitution des Endotoxins durch Plättchenfaktor 3 und Epsilon-Aminocapronsäure nicht alle Effekte des Endotoxins imitiert, die zur Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens notwendig sind. Wurde Kaninchen Noradrenalin zusammen mit Epsilon-Aminocapronsäure und Inosithin infundiert, so kam es trotzdem zu keiner Fibrinbildung in den Glomerulumkapillaren. Auch diese Ergebnisse machen die Befunde von RODRIGUEZ-ERDMANN (1965) unwahrscheinlich, da die Plättchenfaktor 3-Aktivität in Form des Inosithin dreimal höher lag als die Menge, die normalerweise einem Kaninchen beim Verbrauch seiner gesamten Blutplättchen zur Verfügung stände.

Aus den vorliegenden Befunden kann geschlossen werden, daß Endotoxin noch weitere pathophysiologische Mechanismen in Gang setzt, die zur Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens unerläßlich sind. Nur die Summation verschiedener Reaktionen scheint zur Verbrauchs-koagulopathie mit Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibringerinnsel zu führen. Die vorgelegten Ergebnisse sagen nichts darüber aus,

an welcher Stelle des Gerinnungssystems Plättchenfaktor 3 eine Rolle spielt. Es kann als gesichert angesehen werden, daß Plättchen für den Ablauf der intravasalen Gerinnung nach Endotoxininjektion notwendig sind, da nach den Untersuchungen von MARGARETTEN und McKAY (1969) bei plättchenarmen Kaninchen nach zweimaliger Endotoxininjektion kein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen auftritt. Diese Autoren erzeugten eine selektive Thrombocytopenie durch Antiplättchenserum. In einem unterschiedlichen Versuchsansatz konnten EVENSEN und JEREMIC (1968) das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen, ausgelöst durch einmalige Liquoidinjektion, nicht verhindern, wenn bei Kaninchen durch Busulphan, ein Cytostatikum, eine extreme Thrombocytopenie erzeugt worden war. Demnach scheint es verschiedene Mechanismen zu geben, die eine intravasale Gerinnung auslösen können, was nicht verwunderlich ist, da auch im plättchenarmen Plasma ohne zusätzliche Prokoagulantien sehr wohl eine Gerinnung eintreten kann. Die vorgelegten Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß Plättchenfaktor 3 allein keinen Trigger für die intravasale Gerinnung darstellt. Nach Anstoßen des Gerinnungssystems, also im weiteren Verlauf des Gerinnungsprozesses, bilden Plättchen und speziell der Plättchenfaktor 3 ein wichtiges Prokoagulans.

III. Die Bedeutung des Hageman-Faktors für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen

Vorbemerkungen

Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen wird durch einen intravasalen Gerinnungsprozeß verursacht, in dessen Verlauf es zum Aktivitätsverlust der Plasmagerinnungsfaktoren I, II, V, VII, VIII, IX und X kommt (McKAY und SHAPIRO, 1958; KLEINMAIER et al., 1959). Der multiple Gerinnungsdefekt weist darauf hin, daß das Gerinnungssystem in vivo aktiviert wird und der Gerinnungsprozeß ähnlich den Verhältnissen in vitro ablaufen könnte. Gemäß den Vorstellungen von MACFARLANE (1964) sowie DAVIE und RATNOFF (1964) läuft der in vitro-Gerinnungsvorgang in Form einer Kaskade bzw. eines Wasserfalles ab (Abb. 6). Diese Theorie zum Gerinnungsmechanismus fordert als ersten Schritt im "intrinsic" System eine Aktivierung des Faktor XII (Hageman-Faktor). Deshalb schien es von Interesse zu sein, das Verhalten des Hageman-Faktors im Verlauf des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens zu untersuchen.

RODRIGUEZ-ERDMANN (1964) konnte unter Anwendung des Thromboplastinbildungstests eine direkte Aktivierung des Hageman-Faktors durch Endotoxin in vitro wie auch in vivo nachweisen. HAUSMAN und DREYFUS (1953) zeigten, daß einmalige Injektion von Liquoid beim Ka-

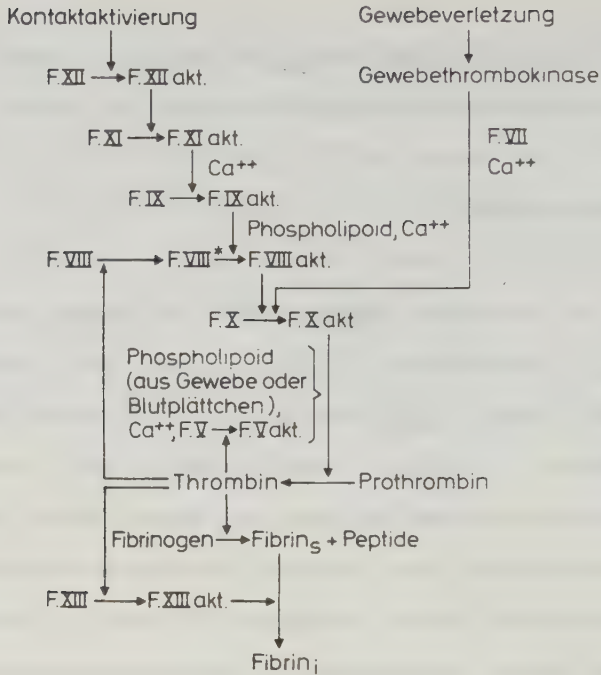


Abb. 6: Schema der Blutgerinnung, basierend auf den Vorstellungen von MACFARLANE (1964) und modifiziert nach LÜSCHER (1968).

ninchen zum Sanarelli-Schwartzman-Phänomen führt. Es schien uns deshalb wichtig zu sein, das Verhalten des Hageman-Faktors nach einmaliger Liquoidinjektion zu untersuchen.

Intravenös injizierter Hageman-Faktor verkürzt nicht nur die Silikon-gerinnungszeit, sondern vermag auch eine kurzzeitige reversible Thrombocytopenie hervorzurufen (MAMMEN und GRAMMENS, 1967). RATNOFF und CRUM (1964) fanden, daß Ellagsäure sowohl in vitro als auch in vivo

den Hageman-Faktor aktiviert. Aus diesem Grunde verwendeten wir Ellagsäure zur Aktivierung des "intrinsic" Gerinnungssystems. In der letzten Untersuchungsreihe wurde versucht, ein "synthetisches" Sanarelli-Shwartzman-Phänomen auszulösen, indem das Gerinnungssystem durch Aktivierung des Hageman-Faktors mit Ellagsäure in Gang gesetzt, das fibrinolytische System durch Epsilon-Aminocaprinsäure gehemmt und die Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems durch Noradrenalin stimuliert wurden (5. Untersuchungsreihe).

4. Untersuchungsreihe: Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors im Verlauf des durch Liquoid ausgelösten Sanarelli-Shwartzman-Phänomens und dessen Verhinderung durch Lysozym

Versuchsanordnung

Kaninchen wurden in zwei Gruppen aufgeteilt:

Gruppe A (Kontrolltiere): Sechszwanzig Kaninchen wurde Liquoid und physiologische Kochsalzlösung (40-60 ml/h) infundiert. Vor Infusionsbeginn, 20 Minuten später und 10, 30, 60, 120, 240 und 360 Minuten nach Liquoidinjektion wurden 5 ml Blut (0,5 ml einer 3,8%igen Natriumcitratlösung plus 4,5 ml Blut) unter Verwendung des Jugular-

venenkatheters gewonnen.

Gruppe B: Zehn Tieren wurde Liquoid injiziert und Lysozym infundiert.

Zwanzig Minuten vor der Liquoidinjektion wurde eine Lysozyminfusion angelegt. Vor Lysozyminfusion und Liquoidinjektion sowie 10, 30, 60, 120, 240 und 360 Minuten nach Liquoidinjektion wurde Blut wie bei den Kontrolltieren entnommen.

Wenn Tiere vor dem Ende der sechsständigen Infusion starben, wurden sie sofort seziert. Überlebende Tiere wurden 6, 24 oder 48 Stunden nach Liquoidinjektion mit einer Überdosis Pentobarbital getötet und im Anschluß daran sofort seziert.

Ergebnisse

A. Wirkung von Liquoid beim Kaninchen

1. Morphologische Veränderungen nach intravenöser Injektion von

Liquoid. - Von 26 Tieren in der Kontrollgruppe, denen physiologische Kochsalzlösung infundiert und Liquoid injiziert worden war, starben 6 innerhalb der ersten 20 Minuten nach Liquoidinjektion. Bei der Sektion fielen besonders Stauung und Blutungen verschiedener Größe in der Lunge sowie eine Rechtsherzdilatation auf. Weitere pathologische Veränderungen wurden nicht festgestellt. Fünf der restlichen 20 Tiere leb-

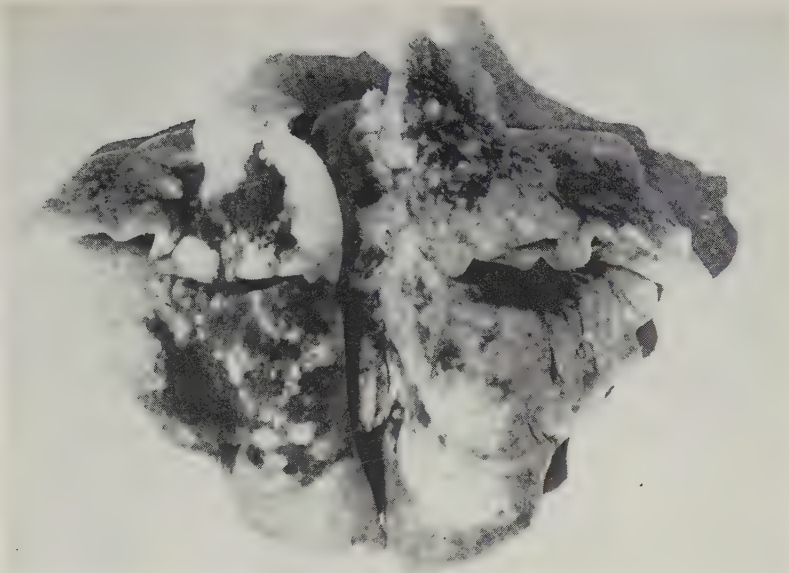


Abb. 7: Blutungen in eine Kaninchenlunge nach intravenöser Injektion von Liquoid (10 mg/kg).

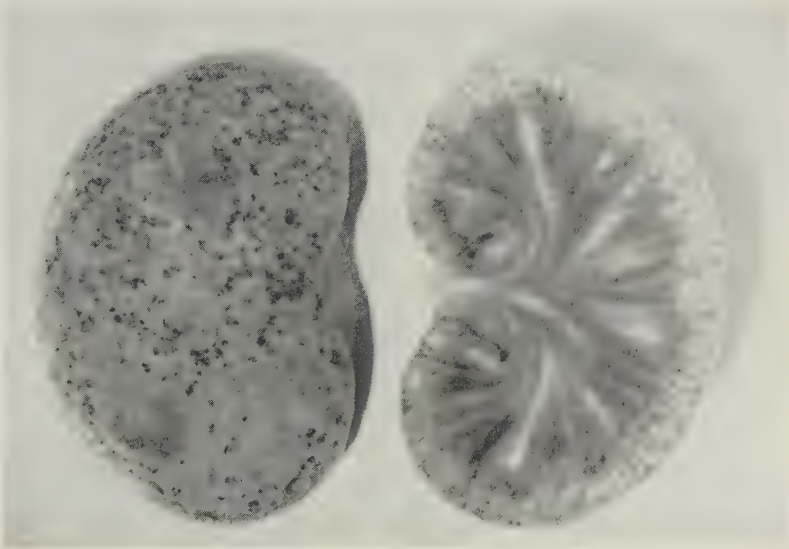


Abb. 8: Bilaterale Nierenrindennekrose bei einem Kaninchen 48 Std. nach Liquoidinjektion (10 mg/kg).

ten 46 bis 120 Minuten nach Liquoidinjektion. Alle 5 Tiere wiesen Blutungen in der Lunge und 4 Nebennierenblutungen auf (Tab. 8). Leber, Milz und Niere waren gestaut und hyperämisch. Bei der histologischen Untersuchung wurde bei allen 5 Tieren Fibrin in den Nieren gefunden. Von den übrigen 15 Kaninchen starben drei 180 bis 240 Minuten nach Liquoidinjektion; 12 Tiere überlebten das sechs Stunden dauernde Experiment. Sieben der 12 überlebenden Tiere wurden 6 Stunden und fünf 24 oder 48 Stunden nach Liquoidverabreichung getötet. Bei Tieren, die zwischen der dritten und vierten Stunde nach Liquoidinjektion starben, fanden sich Stauung und Hyperämie der abdominalen und thorakalen Organe. Von 20 Tieren, die länger als 45 Minuten nach Liquoidinjektion lebten, zeigten 13 Blutungen in der Lunge (Abb. 7), und 12 dieser Tiere wiesen Blutungen in den Nebennieren auf. Wenn die Tiere 24 Stunden nach Liquoidinjektion getötet wurden, konnten nur geringe Blutungen in den Lungen festgestellt werden. Mit Ausnahme der Niere wurden keine weiteren pathologischen Befunde an den Organen erhoben. Die Nieren der Tiere, die die Liquoidinjektion um mehr als 6 Stunden überlebten, zeigten doppelseitige Rindennekrosen (Abb. 8). Die histologische Untersuchung der Nieren von Kaninchen, die länger als 180 Minuten nach Liquoidinjektion gelebt hatten, ergab bei 14 von 15 Kaninchen Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren (Abb. 9). Bei Tieren, die länger als 6 Stunden lebten, konnte eine Nierenrindennekrose gefunden werden. Von insgesamt 20 Tieren, die Liquoid und physiologische Kochsalzlösung erhielten und länger als 45 Minuten

Tab. 8: Häufigkeitsrate von Blutungen bzw. Fibringerinniseln in Lunge, Nebenniere und Niere bei Kaninchen, denen Liquoid und physiologische Kochsalzlösung (Kontrolle) oder Liquoid und Lysozym verabreicht wurde.

	Kontrolle				Lysozym			
	Kaninchen No.	Häufigkeits- grad von Blutungen in der Lunge	Häufigkeits- grad von Blutungen in der Nebenniere	Häufigkeits- grad der Fibrin- präzipitate in der Niere	Kaninchen No.	Häufigkeits- grad von Blutungen in der Lunge	Häufigkeits- grad von Blutungen in der Nebenniere	Häufigkeits- grad der Fibrin- präzipitate in der Niere
Über- lebens- zeit								
Min.								
7 - 20	6	0/6	0/6	0/6	0	-	-	-
46 - 120	5	5/5	4/5	5/5	0	-	-	-
180 - 240	3	3/3	3/3	3/3	1	1/1	0/1	0/1
240	12	5/12	5/12	11/12	9	1/9	0/9	0/9

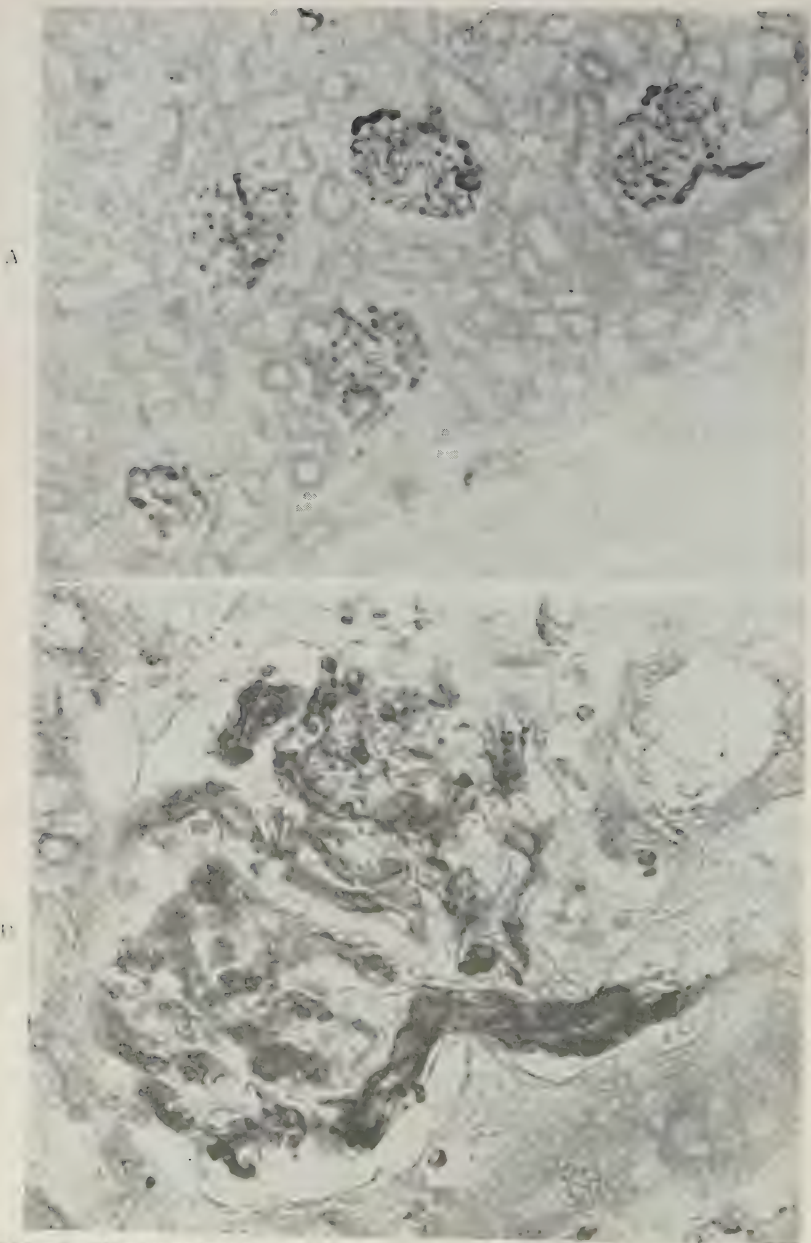


Abb. 2: Fibringerinnetze in den Glomerulumpapillaren der Niere eines Kaninchens, dem 10 mg Liquoid pro Kilogramm Körpergewicht injiziert worden waren. Histochemie. A x 100; B x 400.

lebten, wiesen 19 Tiere Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren auf (Tab. 8).

2. Allgemeiner Gerinnungsdefekt nach intravenöser Injektion von

Liquoid. - Folgende Parameter des Gerinnungssystems, die sich als signifikant verändert bei der Analyse eines intravasalen Gerinnungsprozesses erwiesen haben, wurden bei dieser Untersuchung bestimmt: Plättchenzahl, Fibrinogenspiegel, Faktor-V-Aktivität, partielle Thromboplastinzeit und Thrombelastogramm. Nach intravenöser Injektion von Liquoid wurde ein signifikanter Abfall der Plättchenzahl, des Fibrinogenspiegels und der Faktor-V-Aktivität beobachtet. Parallel hierzu kam es zu einer Verlängerung der R-Zeit und einer Verschmälerung der maximalen Amplitude (M_E) des Thrombelastogramms. Die Leukocytenzahl veränderte sich nicht signifikant im Verlaufe des Experimentes. In Tabelle 9 und 10 sind die hämatologischen Befunde, die bei den Kontrolltieren erhoben wurden, zusammengefaßt.

Bereits 10 Minuten nach Verabreichung von Liquoid fiel die Plättchenzahl von durchschnittlich $143\ 000/\text{mm}^3$ auf $73\ 000/\text{mm}^3$ (ungefähr 50%) ab. Ebenso wurde in den ersten 10 Minuten nach Liquoidinjektion ein Abfall des Fibrinogenspiegels von durchschnittlich 405 mg% auf 277 mg% (ungefähr 75%) und der Faktor-V-Aktivität von 112% auf 61% (ungefähr 55%) beobachtet. Die Gerinnungszeit (R-Zeit) des Thrombelastogramms war 30 Minuten nach Liquoidinjektion signifikant verlängert. Sechs Stunden nach Liquoidverabreichung war sie auf durchschnittlich 48 mm

Tab. 9: Veränderungen der Plättchenzahl, des Fibrinogenspiegels, der Faktor-V- und Hageman-Faktor-Aktivität nach intravenöser Liquoidinjektion beim Kaninchen (M: Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl; p: Signifikanz).

		Minuten vor Liquoidinjektion		Zeit nach		Liquoidinjektion		in		Minuten
		20	0	10	30	60	120	240	360	
Plättchen ($\times 1000/\text{mm}^3$)	M	143	129	73	60	56	64	74	63	
	s $\pm$ n p	46,01 13	40,80 6 >0,05	39,25 13 <0,001	20,83 13 <0,001	22,81 11 <0,001	31,48 10 <0,001	41,07 9 <0,01	45,22 9 <0,001	
Fibrinogen (mg%)	M	405	342	277	229	215	205	202	192	
	s $\pm$ n p	86,90 14	78,55 7 >0,05	90,88 14 <0,001	76,15 13 <0,001	101,00 13 <0,001	103,82 10 <0,001	112,40 9 <0,001	121,40 8 <0,001	
Faktor V (%)	M	112	98	61	54	46	35	31	31	
	s $\pm$ n p	18,69 14	27,10 7 >0,05	23,63 14 <0,001	24,08 14 <0,001	21,35 13 <0,001	13,94 11 <0,001	11,64 9 <0,001	11,85 9 <0,001	
Hageman-Faktor (%)	M	100	76	15	13	14	20	24	30	
	s $\pm$ n p	0 15	17,96 7 >0,05	13,67 14 <0,001	13,85 15 <0,001	14,02 14 <0,001	15,09 11 <0,001	14,50 10 <0,001	13,80 10 <0,001	

Tab. 10: Veränderungen der R-Zeit und der maximalen Amplitude M_E des Thrombelastogramms, der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und der Leukozytenzahl nach intravenöser Liquoidinjektion beim Kaninchen (M: Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl; p: Signifikanz).

	Minuten vor Liquoidinjektion		Zeit nach		Liquoidinjektion				in Minuten	
	20	0	10	30	60	120	240	360		
R-Zeit des TEG (mm)	M	13,3	10,4	16,7	24,6	19,9	25,1	47,0	48,1	
	s +	5,90	5,52	8,37	13,06	7,55	5,88	26,36	19,65	
	n	14	7	10	13	11	10	8	8	
	p		> 0,05	> 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,001	< 0,01	< 0,001	
M _E des TEG (mm)	M	52	48	5	11	20	29	27	28	
	s +	7,07	4,52	4,84	8,78	12,00	8,09	9,06	9,62	
	n	13	6	12	13	11	9	9	8	
	p		> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
PTT (sec.)	M	30,6	33,9	> 300	> 300	> 300	94,2	104,8	100,4	
	s +	5,43	5,99				100,48	71,07	52,05	
	n	14	7	14	13	8	10	9	9	
	p		> 0,05				> 0,05	< 0,01	< 0,001	
Leukocyten	M	6664	6186	4143	5061	6231	9318	13322	12863	
	s +	1967	2140	1797	1598	2592	5717	7916	5549	
	n	14	7	14	14	13	11	9	9	
	p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

(= 24 min) angestiegen. Die maximale Amplitude des TEG erreichte ihren schmalsten Wert von durchschnittlich 5 mm bereits 10 Minuten nach Liquoidinjektion und wurde langsam im Verlauf des Experimentes wieder weiter. Die partielle Thromboplastinzeit war von durchschnittlich 31 Sekunden auf über 5 Minuten verlängert; 6 Stunden nach Liquoidinjektion betrug ihre Verlängerung immer noch durchschnittlich 100 Sekunden (Tab. 10).

3. Wirkung einer intravenösen Liquoidinjektion auf die Aktivität des Hageman-Faktors. - Nach intravenöser Liquoidinjektion konnte ein starker Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors beobachtet werden. Bereits 10 Minuten nach Liquoidverabreichung war die Hageman-Faktor-Aktivität von 100% auf durchschnittlich 15% abgefallen (Tab. 9). Im Verlauf des Experimentes konnte keine Normalisierung beobachtet werden (Abb. 10). Der Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors war die stärkste Veränderung aller Gerinnungsparameter, die bei dieser Untersuchung beobachtet wurde.

B. Wirkung von Liquoid auf mit Lysozym behandelte Kaninchen

1. Morphologische Veränderungen nach intravenöser Injektion von Liquoid bei mit Lysozym behandelten Tieren. - Zehn Kaninchen wurde 20 Minuten lang Lysozym infundiert; zu diesem Zeitpunkt wurde Liquoid injiziert und die Lysozyminfusion bis zu 6 Stunden nach Liquoidinjektion

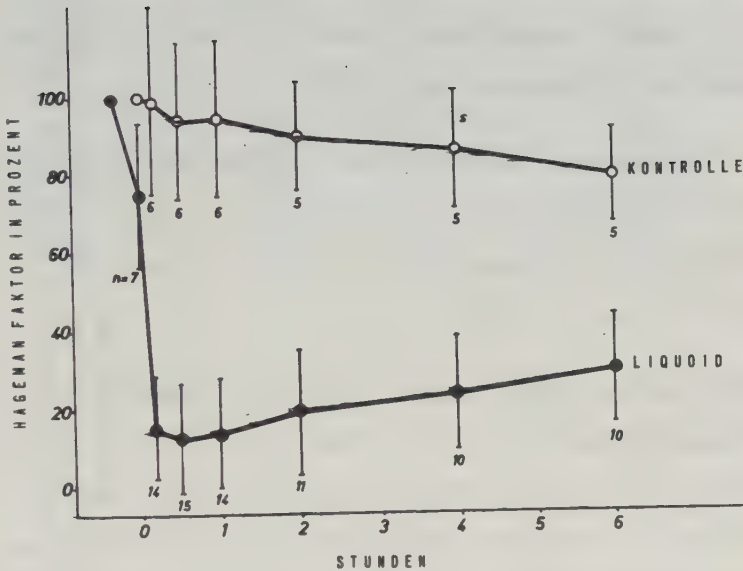


Abb. 10: Aktivitätsänderung des Hageman-Faktors nach intravenöser Injektion von Liquoid (10 mg/kg) bzw. physiologischer Kochsalzlösung. (s = Standardabweichung)

fortgesetzt. Ein Kaninchen starb 4 Stunden nach Liquoidinjektion. Fünf der restlichen Kaninchen wurden 6 Stunden und 4 Tiere 24 Stunden nach Liquoidgabe getötet. Die makroskopische Untersuchung zeigte blasse, feuchte abdominale und thorakale Organe; besonders die Nieren waren sehr blaß. Pleura- und Bauchhöhlen waren zum Teil verstärkt mit Flüssigkeit gefüllt. Ein Tier, das 4 Stunden nach Liquoidinjektion starb, wies Blutungen und ein ausgeprägtes Ödem der Lunge auf. Die übrigen

Organe dieses Tieres waren unauffällig. Bei allen mit Lysozym behandelten Kaninchen konnten weder Nebennierenblutungen noch Nierenrindennekrosen nachgewiesen werden (Tab. 8).

Bei der histologischen Untersuchung wurden die wichtigsten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt. Kein Tier, das mit Lysozym behandelt und dem Liquoid injiziert worden war, wies Fibringerinnsel oder eine Nierenrindennekrose auf.

2. Hämatologische Veränderungen nach Liquoidinjektion bei mit Lysozym behandelten Kaninchen. - Zwanzig Minuten nach Beginn der Lysozyminfusion war die partielle Thromboplastinzeit von durchschnittlich 29 Sekunden auf 108 Sekunden verlängert (Tab. 12). Um diese Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit zu erreichen, wurden 20 bis 50 mg Lysozym pro Minute 20 Minuten lang infundiert. Im weiteren Verlauf des Experimentes erhielten die Tiere zwischen 5 und 15 mg Lysozym pro Minute. Die übrigen Gerinnungsparameter, wie Plättchenzahl, Fibrinogenspiegel, Faktor-V-Aktivität und M_E des Thrombelastogramms wurden durch die Lysozyminfusion nicht beeinflusst. Nur die R-Zeit des Thrombelastogramms war leicht, aber nicht signifikant, verlängert (Tab. 11 und 12).

Nach Injektion von Liquoid bei Tieren, denen kontinuierlich Lysozym infundiert wurde, kam es zu ähnlichen Veränderungen wie bei den Kontrolltieren, die anstelle von Lysozym physiologische Kochsalzlösung erhielten.

Tab. 11: Veränderungen der Plättchenzahl, des Fibrinogenspiegels und der Faktor-V-Aktivität nach intravenöser Liquoidinjektion bei Kaninchen, bei denen das Auftreten eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens durch Lysozym-infusion verhindert wurde (M: Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl; p: Signifikanz).

		Minuten vor Liquoidinjektion		Zeit nach		Liquoidinjektion in			
		20	0	10	30	60	120	240	360
Plättchen ($\times 1000/\text{mm}^3$)	M	140	113	43	50	63	79	84	78
	s + n p	53, 76 9	42, 76 8	25, 09 8	23, 24 9	26, 57 9	36, 98 9	47, 65 9	42, 17 9
			>0, 05	<0, 001	<0, 001	<0, 01	<0, 01	<0, 01	<0, 05
Fibrinogen (mg%)	M	410	395	301	308	334	267	265	265
	s + n p	96, 50 9	108, 23 9	138, 73 8	115, 39 9	111, 68 7	103, 88 9	155, 76 9	92, 88 9
			>0, 05	>0, 05	>0, 05	>0, 05	<0, 01	<0, 05	<0, 01
Faktor V (%)	M	119	116	102	96	85	77	72	76
	s + n p	16, 92 9	21, 58 9	23, 94 8	16, 76 9	13, 10 9	14, 53 9	27, 94 9	33, 08 9
			>0, 05	>0, 05	<0, 05	<0, 001	<0, 001	<0, 001	<0, 001

Tab. 12: Veränderungen der R-Zeit und der maximalen Amplitude M_E des Thrombelastogramms, der partiiellen Thromboplastinzeit (PTT) und der Leukozytenzahl nach intravenöser Liquoidinjektion bei Kaninchen, bei denen das Auftreten eines Sanarelli-Swartzman-Phänomens durch Lysozyminfusion verhindert wurde (M: Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl; p: Signifikanz).

		Minuten vor Liquoidinjektion		Zeit nach		Liquoidinjektion		in Minuten	
		20	0	10	30	60	120	240	360
R-Zeit des TEG (mm)	M s + - n	17,5 6,54 8	22,6 6,45 8	26,3 11,28 7	21,2 6,59 8	22,3 6,94 8	24,3 7,12 8	13,0 10,56 8	13,9 9,68 8
	p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,01	< 0,01
M_E des TEG (mm)	M s + - n	55 5,20 9	49 6,63 9	13 7,68 8	24 10,26 9	30 10,89 9	33 10,67 9	32 12,15 9	33 12,48 9
	p		> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
PTT (sec.)	M s + - n	29,2 4,42 9	107,7 61,27 9	99,4 48,30 8	99,1 67,77 9	125,8 73,40 9	138,3 92,58 9	163,9 93,61 9	134,6 59,98 7
	p		< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,001	< 0,001
Leukozyten	M s + - n	7422 3310 9	5500 1642 9	4975 1656 8	4922 1575 9	5667 4511 9	6500 4948 9	8233 4037 9	8300 4121 9
	p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

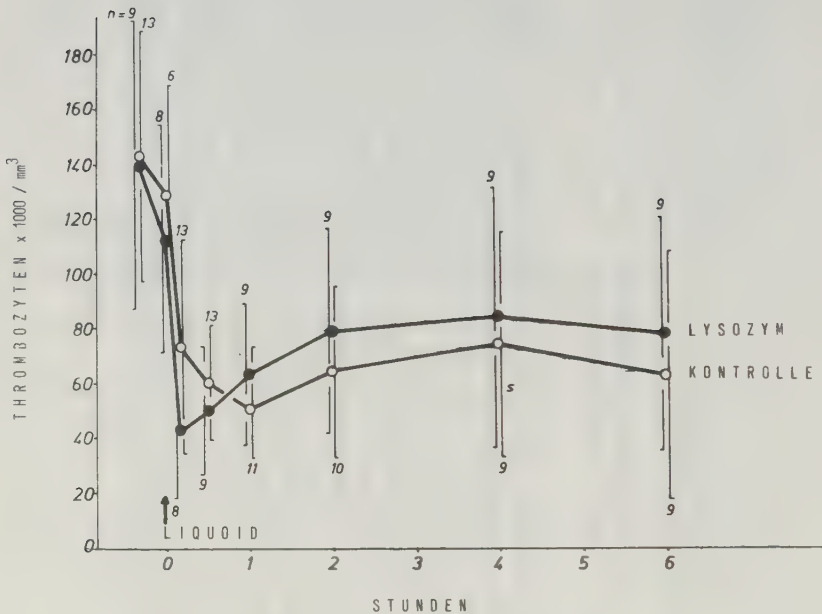


Abb. 11: Veränderungen der Thrombocytenzahl nach intravenöser Liquoidinjektion beim Kaninchen. Durch Lysozyminfusion konnte die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens verhindert werden. (s = Standardabweichung)

Die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen sind in Tabelle 11 und 12 zusammengefaßt. Tabelle 13 zeigt die p-Werte, die für die Parameter zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe errechnet wurden.

Zehn Minuten nach Liquoidinjektion fielen bei den mit Lysozym behan-

delten Kaninchen die Blutplättchen von durchschnittlich Werten um $113\,000/\text{mm}^3$ auf $43\,000/\text{mm}^3$ ab. Die Lysozyminfusion konnte den initialen Abfall der Plättchenzahl nicht verhindern, aber im weiteren Verlauf des Experimentes nahm die Plättchenzahl nicht weiter ab, wie dies bei den Kontrolltieren beobachtet wurde. Sechs Stunden nach Liquoidinjektion stieg die Plättchenzahl von durchschnittlich $43\,000/\text{mm}^3$ 10 Minuten nach Liquoidinjektion auf Werte um $80\,000/\text{mm}^3$ an. Abbildung 11 veranschaulicht das unterschiedliche Verhalten der Plättchenzahl bei Tieren der Kontrollgruppe und der experimentellen Gruppe.

Der Fibrinogenspiegel bei mit Lysozym behandelten Tieren fiel von durchschnittlich 395 mg% vor Liquoidinjektion auf Werte um 301 mg% 10 Minuten nach Liquoidinjektion ab. Während der folgenden 6 Stunden resultierte kein weiterer Abfall des Fibrinogenspiegels (Abb. 12).

Der wichtigste Unterschied wurde bei der Faktor-V-Bestimmung festgestellt (Tab. 11). Der niedrigste Faktor-V-Spiegel bei Tieren, die mit Lysozym behandelt wurden, betrug 72%, während in der Kontrollgruppe die Faktor-V-Aktivität auf durchschnittlich 31% abfiel (Tab. 9). Abbildung 13 soll den unterschiedlichen Verlauf der Faktor-V-Aktivität bei Tieren der Kontrollgruppe und bei Tieren, die mit Lysozym behandelt wurden, veranschaulichen.

Die R-Zeit des Thrombelastogramms verlängerte sich leicht bei mit Lysozym behandelten Tieren (32 mm 6 Stunden nach Liquoidinjektion),

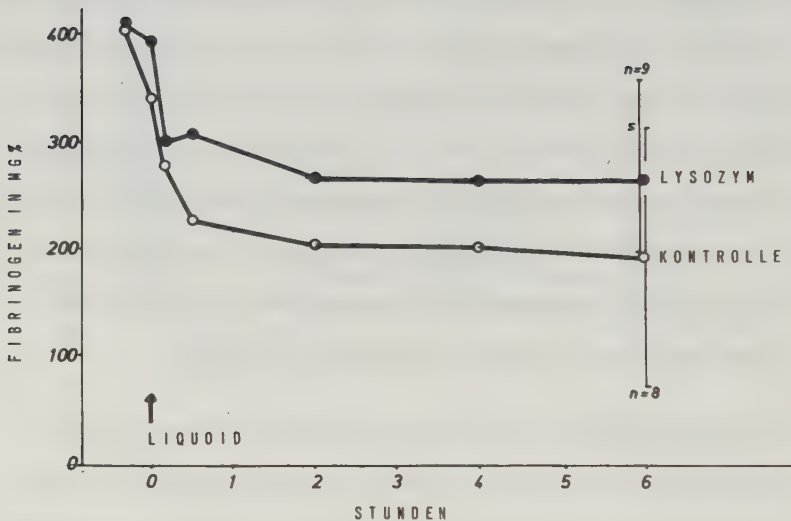


Abb. 12: Veränderung des Fibrinogenspiegels nach intravenöser Liquidinjektion. Kontrolltiere entwickelten ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen, während bei Tieren, denen Lysozym infundiert wurde, das Phänomen nicht ausgelöst werden konnte. (s = Standardabweichung)

aber nicht so ausgeprägt wie bei den Kontrolltieren (48 mm 6 Stunden nach Liquidinjektion). Die Verlängerung der R-Zeit der experimentellen Gruppe ist teilweise durch die Lysozyminfusion bedingt, da diese Infusion allein die R-Zeit schon von durchschnittlich 18 mm auf 23 mm verlängerte, während Kochsalzinfusion bei den Kontrolltieren die R-Zeit von durchschnittlich 13 mm auf 10 mm verkürzte (Tab. 10 und 12 sowie Abb. 14).

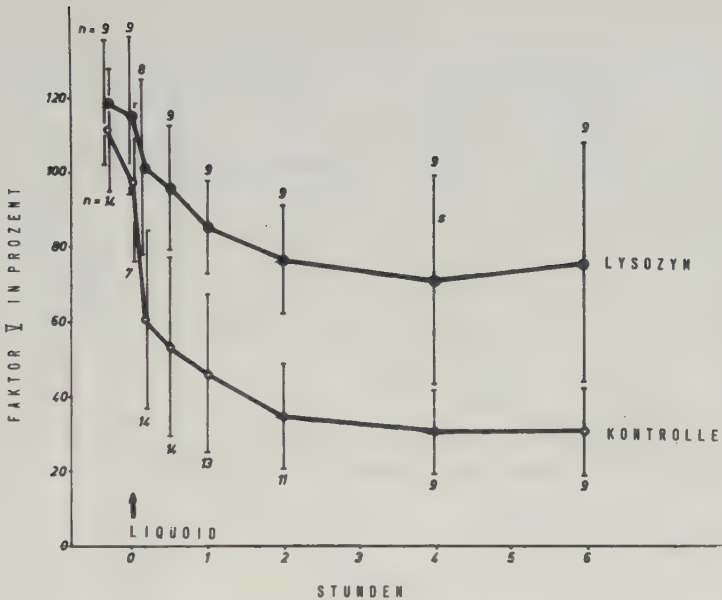


Abb. 13: Aktivitätsänderung des Faktor V nach intravenöser Liquoidinjektion beim Kaninchen. Lysozyminfusion verhinderte das Auftreten eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens und verringerte den Aktivitätsabfall des Faktor V im Vergleich zur Kontrollgruppe. (s = Standardabweichung)

Bei mit Lysozym behandelten Tieren wurde der niedrigste Wert für die maximale Amplitude (M_E) des TEG unmittelbar nach Liquoidinjektion beobachtet. Zu keinem Zeitpunkt des Experimentes konnte die Lysozyminfusion die Verschmälerung von M_E signifikant verhindern. Die Abbildungen 14 und 15 zeigen die Mittelwertskurven von R-Zeit und M_E des Thrombelastogramms bei Tieren der Kontroll- und Versuchsgruppe.

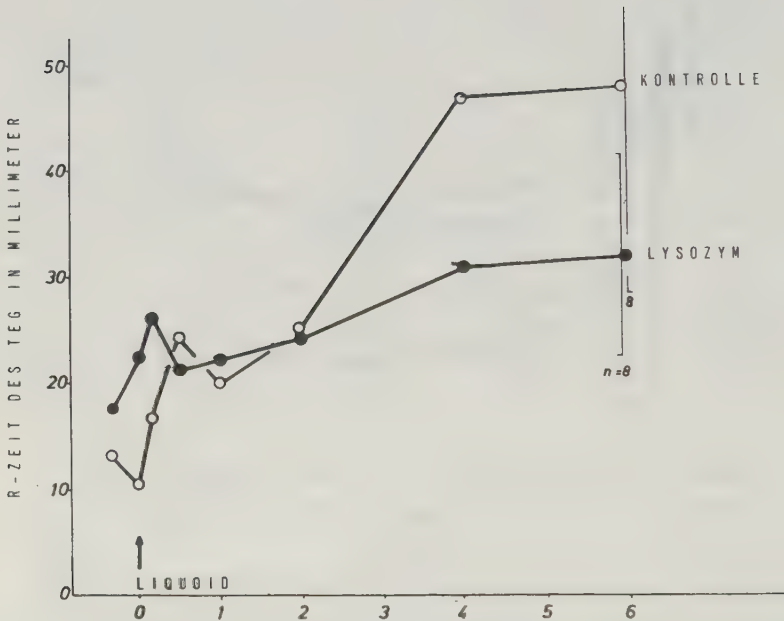


Abb. 14: Veränderung der Gerinnungszeit (R-Zeit), gemessen mit dem Thrombelastographen, nach intravenöser Liquoidinjektion bei Kaninchen, denen Lysozym oder physiologische Kochsalzlösung (Kontrolle) infundiert wurde. (s = Standardabweichung)

Lysozyminfusionen beeinflussen die Leukocytenzahl nicht signifikant.

Ebenso wurden keine unterschiedlichen Leukocytenzahlen zwischen den Tieren der Versuchs- und Kontrollgruppe festgestellt, mit Ausnahme des Sechsstunden-Wertes. Zu diesem Zeitpunkt lag die Leukocytenzahl der Kontrolltiere höher als die der mit Lysozym behandelten Tiere (Abb. 16).

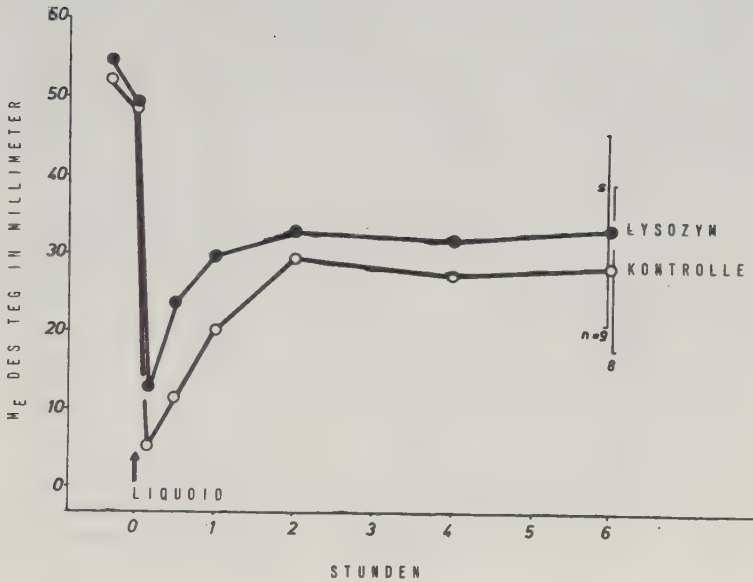


Abb. 15: Veränderung der maximalen Amplitude (M_E) des Thrombelastogramms nach intravenöser Liquoidinjektion bei Tieren, denen Lysozym oder physiologische Kochsalzlösung infundiert wurde (Kontrolle). (s = Standardabweichung)

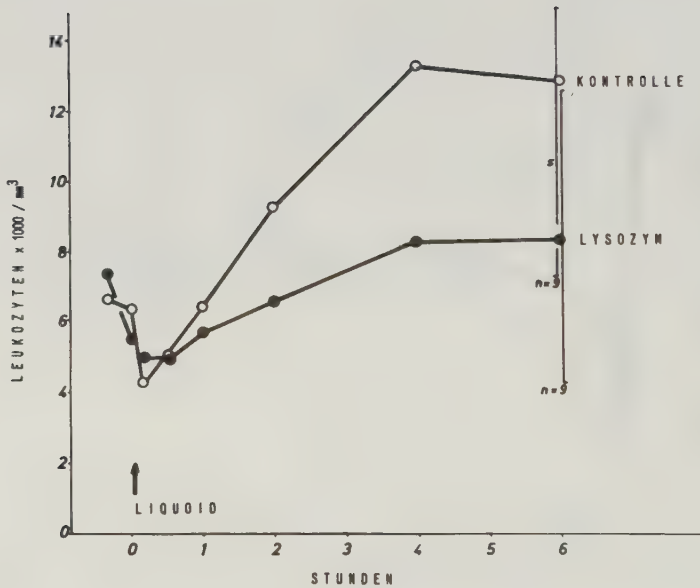


Abb. 16: Veränderung der Leukocytenzahl nach intravenöser Liquoidinjektion bei Kaninchen, denen Lysozym oder physiologische Kochsalzlösung (Kontrolle) infundiert wurde. (s = Standardabweichung)

Besprechung der Ergebnisse

Eine einmalige Liquoidinjektion löst beim Kaninchen eine Verbrauchskoagulopathie mit Verlegung der Glomerulumkapillaren durch Fibringerinnsel und nachfolgender doppelseitiger Nierenrindennekrose aus (RODRIGUEZ-ERDMANN et al., 1960). Die Verbrauchskoagulopathie in der vorliegenden Untersuchung wurde durch einen Abfall der Plättchenzahl, des Fibrinogenspiegels und der Faktor-V-Aktivität gesichert. EVENSEN, JEREMIC und HJORT (1967) zeigten, daß diese Veränderungen im Gerinnungssystem teilweise durch eine Verbrauchskoagulopathie bedingt sind und nicht ausschließlich auf die präzipitierende Wirkung des Liquoid zurückgeführt werden können. Diese Autoren wiesen nach, daß das durch Liquoid ausgelöste Sanarelli-Schwartzman-Phänomen durch Vorbehandlung der Tiere mit Warfarin, einem Vitamin-K-Antagonisten, verhindert werden kann.

Drei Theorien können den Auslösungsmechanismus der intravasalen Gerinnung nach Liquoidinjektion erklären:

1. Liquoid aktiviert die Gerinnung durch seinen Effekt auf die Plättchen, indem es prokoagulatorische Substanzen aus den Plättchen freisetzt (RODRIGUEZ-ERDMANN und LASCH, 1961).
2. Liquoid aggregiert Leukocyten und setzt deren Granula frei, die ihrerseits Fibrin präzipitieren (HAWIGER, COLLINS und HORN, 1969).

3. Fibrinogenpräzipitation wird durch einen direkten Effekt des Liquoid verursacht (THOMAS, SMITH und von KORFF, 1955).
4. Aktivierung des Hageman-Faktors durch Liquoid löst einen intravasalen Gerinnungsprozeß aus.

Wir nehmen aus folgenden Gründen an, daß Liquoid die Verbrauchs-koagulopathie über eine Aktivierung des Hageman-Faktors startet:

EVENSEN und JEREMIC (1968) zeigten, daß Liquoid einen intravasalen Gerinnungsprozeß aktivieren und ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen bei Kaninchen hervorrufen kann, bei denen eine extreme Thrombocytopenie ($9\,000/\text{mm}^3$) durch Verabreichung eines Cytostatikums erzeugt worden war. Wir beobachteten annähernd den gleichen Abfall der Plättchenzahl nach Liquoidinjektion bei Tieren, denen Lysozym infundiert wurde, wie bei Kontrolltieren, obwohl Lysozym das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen verhinderte. Diese Ergebnisse machen es unwahrscheinlich, daß Plättchenaggregation für den Auslösungsmechanismus des intravasalen Gerinnungsprozesses verantwortlich ist, da Lysozym den Abfall der Plättchenzahl nicht verhindern konnte.

Die Leukocyten scheinen bei der Auslösung der intravasalen Gerinnung nach Liquoidinjektion ebenfalls keine Rolle zu spielen. Leukocytenaggregation und Freisetzungsreaktion der spezifischen Granula wurde von HORN und COLLINS (1968) als Triggermechanismus des intravasalen Gerinnungsprozesses beim Sanarelli-Schwartzman-Phänomen, ausgelöst

durch Endotoxin, diskutiert. HAWIGER, COLLINS und HORN (1969) legten Ergebnisse vor, die den Leukocytengranula eine präzipitierende Eigenschaft für lösliche Fibrinmonomerkomplexe zuschreiben. Diese Befunde scheinen aber nicht auf das durch Liquoid ausgelöste Sanarelli-Schwartzman-Phänomen zuzutreffen, da kein Abfall der Leukocytenzahl nach Liquoidinjektion beobachtet werden kann. Ebenso kann man durch Vorbehandlung der Tiere mit Stickstoff-Lost das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen, ausgelöst durch Liquoid, nicht verhindern (THOMAS, BRUNSON und SMITH, 1955), wohl aber das durch Endotoxin ausgelöste Phänomen (GOOD und THOMAS, 1952). Schließlich konnten wir durch Infusion von Lysozym zwar das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen, ausgelöst durch Liquoid, verhindern, die Leukocytenzahl aber nicht beeinflussen.

ZUNZ, MENA-UGALDE und VESSELOVSKY (1935) sowie CHORINE (1941) zeigten, daß Liquoid Fibrinogen in vitro präzipitiert. THOMAS, SMITH und von KORFF (1955) vermuteten, daß Liquoid auch in vivo Fibrinogen präzipitiert und es so zu einer Verlegung der Glomerulumkapillaren kommt. Dieser Wirkungsmechanismus des Liquoid scheint unwahrscheinlich, da das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen bei Tieren nicht auszulösen ist, bei denen durch Vorbehandlung mit Warfarin ein Prothrombinmangel erzeugt wurde (EVENSEN, JEREMIC und HJORT, 1967). Diese Befunde machen einen intravasalen Gerinnungsprozeß für die Präzipitation von Fibrin in den Glomerulumkapillaren

verantwortlich. In gleicher Weise beobachteten wir einen initialen Abfall des Fibrinogenspiegels, der als primäre Präzipitation des Fibrinogens gedeutet wird, auch bei Tieren, bei denen das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen durch Infusion von Lysozym verhindert wurde.

Wir schließen aus unseren Untersuchungen, daß die Aktivierung des Hageman-Faktors für die Auslösung des intravasalen Gerinnungsprozesses nach Liquoidinjektion verantwortlich ist: Erstens wiesen alle Tiere nach Liquoidinjektion einen starken Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors auf. Bereits 10 Minuten nach Liquoidinjektion war die Aktivität des Hageman-Faktors signifikant verringert. Ein Vergleich der verschiedenen Parameter, die bei intravasalen Gerinnungsprozessen eine Rolle spielen können, zeigt, daß die Aktivität des Hageman-Faktors als erste abnimmt. Dieser Aktivitätsverlust kann nicht durch die antikoagulatorische Wirkung von Liquoid im Testsystem erklärt werden, da die Gerinnungszeit nur minimal verlängert war. Ähnlich dem Aktivitätsverlust des Hageman-Faktors kam es zu einer Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit, wenn Kaolin als Oberflächenaktivator im Testsystem verwendet wurde. Eine Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit kann durch Verlust der Hageman-Faktor-Aktivität erklärt werden.

Zweitens konnte das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen nach Liquoidinjektion durch Hemmung der Hageman-Faktor-Aktivierung durch Lysozym verhindert werden. NOSSEL et al. (1968) beschrieben mehrere

Inhibitoren gegen eine Aktivierung des Hageman-Faktors. Lysozym schien für unsere Zwecke am besten geeignet, da es in vivo nicht so schnell wie Cytochrom c, ein weiterer Inhibitor gegen die Aktivierung des Hageman-Faktors, inaktiviert wird. Neun von 10 Tieren, denen Lysozym infundiert und eine letale Liquoiddosis (LD: 90%) injiziert wurde, überlebten, und keines der 10 Tiere entwickelte das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen. Hingegen wiesen in der Kontrollgruppe 19 von 20 Tieren, die anstelle der Lysozyminfusion nur physiologische Kochsalzlösung erhielten und länger als 40 Minuten überlebten, Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf. Diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß die disseminierte intravasale Gerinnung nach Liquoidinjektion durch eine Aktivierung der Kontaktphase der Blutgerinnung ausgelöst wird.

Die vorliegenden Untersuchungen beweisen nicht, daß Liquoid den Hageman-Faktor direkt aktiviert. Theoretisch muß man in Betracht ziehen, daß Lysozym neben seinem Hemmeffekt auf die Aktivierung des Hageman-Faktors durch einen unterschiedlichen, noch nicht näher bekannten Mechanismus das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen verhindern könnte. Deshalb soll erörtert werden, wie Lysozym das durch Liquoid ausgelöste Sanarelli-Shwartzman-Phänomen hemmen könnte.

An drei Angriffspunkten im Gerinnungssystem könnte Lysozym eingreifen: Möglicherweise verhindert es die direkte Aktivierung des Hageman-Faktors durch Liquoid, oder es hemmt die Freisetzung eines Gewebe-

faktors bzw. die Aktivierung des Hageman-Faktors durch einen Gewebefaktor.

1. In vitro-Versuche ergaben keinen Hinweis darauf, daß Plättchenaggregation, ausgelöst durch ADP, durch Lysozym verhindert werden kann. Analog hierzu ließ sich im Tierexperiment der Abfall der Plättchenzahl nach Liquoidinjektion durch Infusion von Lysozym nicht vermindern.
2. Lysozym hob in vitro die präzipitierende Wirkung von Liquoid auf Fibrinogen und andere Proteine nicht auf. Wenn Kaninchen Liquoid intravenös verabreicht wurde, so kam es annähernd zu dem gleichen Fibrinogenabfall bei Kontrolltieren wie bei mit Lysozym behandelten Tieren. Die maximale Amplitude des TEG, die hauptsächlich durch Plättchenzahl und -aktivität sowie durch Fibrinogenspiegel und den fibrinstabilisierenden Faktor beeinflusst wird, war sowohl bei behandelten Tieren als bei Kontrolltieren annähernd gleichmäßig verschmälert. Zusammenfassend kann man sagen, daß Lysozym weder in vitro noch in vivo die Effekte des Liquoid auf die Gerinnungsparameter mit Ausnahme des Aktivierungsmechanismus für den Hageman-Faktor verhindern konnte.
3. Im Verlaufe eines durch Liquoid ausgelösten intravasalen Gerinnungsprozesses kam es zum Aktivitätsabfall des Faktor V auf ungefähr 30%. Wenn Tieren Lysozym infundiert wurde, fiel die Aktivität des Faktor V

auf nur 70% ab. Diese Beobachtung beweist, daß die disseminierte intravasale Gerinnung bei den mit Lysozym behandelten Tieren nicht auftrat.

4. EVENSEN und JEREMIC (1968) schlugen zur Erklärung der gerinnungsaktivierenden Eigenschaft von Liquoid die Freisetzung eines gerinnungsaktiven Gewebefaktors vor. In diesem Fall müßte Lysozym die Freisetzung dieser gerinnungsfördernden Aktivität des Gewebes oder die Aktivierung des Hageman-Faktors durch diesen Gewebefaktor hemmen. Unsere experimentellen Ergebnisse schließen diese Möglichkeit nicht aus. Wenn jedoch die Theorie von EVENSEN und JEREMIC zutrifft, dann muß gleichzeitig ein neuer Effekt des Lysozym angenommen werden, der darin besteht, daß Lysozym die Freisetzungsreaktion hemmt.

Unsere Befunde zeigen, daß Hageman-Faktor nach intravenöser Injektion von Liquoid abfällt. Durch Infusion von Lysozym konnte die Aktivierung des Hageman-Faktors wie auch die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens durch Liquoid verhindert werden. Wie in der 5. Untersuchungsreihe ausgeführt, können durch Aktivierung des Hageman-Faktors in vivo in der Tat ein intravasaler Gerinnungsprozeß und ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ausgelöst werden, wenn gleichzeitig die Fibrinolyse durch Epsilon-Aminocapronsäure gehemmt und das adrenerge System durch Noradrenalin stimuliert wurde.

5. Untersuchungsreihe: Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens durch gleichzeitige Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin

Versuchsordnung

Vierundsechzig nichtnarkotisierte Kaninchen wurden in 5 Gruppen aufgeteilt (vgl. Tab. 14). Den Tieren wurden gleichzeitig 3 oder 4 der folgenden Substanzen infundiert: Ellagsäure (Konzentration: 0,24 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 105 ml/h); Inosithin (Konzentration: 1 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 11,5 ml/h); Epsilon-Aminocapronsäure (Konzentration: 10 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 11,5 ml/h) und Noradrenalin in drei verschiedenen Konzentrationen (1,25 µg/kg/min; 2,40 µg/kg/min und ansteigende Konzentration von 1,25 - 2,50 µg/kg/min: 1,25 µg/kg/min über 3 1/4 Stunde, 1,88 µg/kg/min über 1/2 Stunde und 2,50 µg/kg/min über 3/4 Stunde). In den verschiedenen Gruppen wurde jeweils eine der vier Substanzen ausgelassen und durch das gleiche Volumen physiologischer Kochsalzlösung ersetzt. In Gruppe II wurden alle 4 Substanzen jedem einzelnen Tier infundiert.

Sieben Affen wurden folgende Substanzen infundiert: Ellagsäure (Konzentration: 0,24 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 105 ml/h), Inosithin (Konzentration: 1 mg/ml; Infusionsgeschwindigkeit: 11,5 ml/h),

Epsilon-Aminocaprönsäure (250 mg in 1 ml als einmalige Injektion vor Beginn der Infusion; dann 50 mg/ml mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 11,5 ml/h) und Noradrenalin (1,25 µg/kg/min über 3 Stunden; 1,88 µg/kg/min über die nächste dreiviertel Stunde und 2,5 µg/kg/min bis zum Ende des Experiments). Ein Affe erhielt alle 4 Substanzen, während bei 4 weiteren Affen jeweils eine der 4 Substanzen ausgelassen und durch das gleiche Volumen an physiologischer Kochsalzlösung ersetzt wurde (Tab. 15). Zwei weitere Affen erhielten Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin in den angegebenen Konzentrationen. Diesen beiden Tieren war eineinhalb Stunden vor Beginn der Infusionen 5 mg Dibenzylin pro Kilogramm Körpergewicht injiziert worden (vgl. Tab. 15).

Ergebnisse

A. Experimente am Kaninchen

Kaninchen dieser Untersuchungsreihe wurde Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin infundiert. In den verschiedenen Gruppen wurde jeweils eine dieser 4 Substanzen durch das gleiche Volumen physiologische Kochsalzlösung ersetzt (Tab. 14).

Bei der Obduktion der Tiere fiel eine Stauung und Hyperämie der thorakalen und abdominalen Organe auf. Die Pleura der Lungen zeigten

Tab. 14: Häufigkeitsrate von glomerulären Fibringerinnseeln nach Infusion von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin beim Kaninchen. (Aus: MCKAY, MÜLLER-BERGHÄUS und CRUSE, 1969).

Gruppe	Ellag-säure	Inosithin	Epsilon-Aminocapron-säure	Noradrenalin µg/kg/min	Kaninchen No.	Häufigkeitsrate von glomerulären Fibringerinnseeln
I	++ ++ +	— — —	++ ++ +	1,25 2,40 1,25-2,50 ^x	4 6 10	$\left. \begin{array}{l} 3/4 \\ 1/6 \\ 7/10 \end{array} \right\}$ 11/20
II	++ ++ +	++ ++ +	++ ++ +	1,25 2,40 1,25-2,50 ^x	4 6 5	$\left. \begin{array}{l} 2/4 \\ 1/6 \\ 5/5 \end{array} \right\}$ 8/15
III	— — —	++ ++ +	++ ++ +	1,25 2,40 1,25-2,50 ^x	2 5 5	$\left. \begin{array}{l} 0/2 \\ 0/5 \\ 0/5 \end{array} \right\}$ 0/12
IV	+	+	+	—	5	0/5 0/5
V	++ ++ +	++ ++ +	— — —	1,25 2,40 1,25-2,50 ^x	2 5 5	$\left. \begin{array}{l} 0/2 \\ 0/5 \\ 0/5 \end{array} \right\}$ 0/12

^x1, 25-2, 50 bedeutet: ansteigende Noradrenalin-dosis: 1, 25 µg/kg/min über 3 1/4 Std.

1, 88 µg/kg/min über 1/2 Std.

2, 50 µg/kg/min über 3/4 Std.

Blutungen in der Größe von Petechien bis zu großflächigen Hämorrhagien. Manchmal war ein gesamter Lungenlappen blutig tingiert. Leber und Milz waren gestaut. Die Nieren waren meistens blaß und manchmal leicht vergrößert. Mit Ausnahme der Lunge wiesen die übrigen Organe in den 5 verschiedenen Gruppen (Tab. 14) keine makroskopisch sichtbaren Unterschiede auf.

Die histologische Untersuchung der Organe zeigte sehr unterschiedliche Ergebnisse. Wenn Ellagsäure zusammen mit Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin infundiert wurde, wiesen 11 von 20 Tieren Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf (Tab. 14, Gruppe I). Die Gerinnsel bestanden zum großen Teil aus Fibrin, wie durch Phosphorwolframsäurefärbung (Abb. 17) und durch elektronenoptische Untersuchungen gezeigt werden konnte. Diese fibrinreichen Präzipitate in den Glomerulumkapillaren der Niere können als identisch mit denen bezeichnet werden, wie man sie beim klassischen Sanarelli-Shwartzman-Phänomen findet. Sowohl bei konstanter Infusion von $1,25 \mu\text{g}$ Noradrenalin pro Kilogramm Körpergewicht pro Minute als auch bei ansteigender Noradrenalindosis konnten glomeruläre Gerinnsel beobachtet werden (Tab. 14, Gruppe I). Offensichtlich gibt es eine optimale Noradrenalindosis zur Erzeugung von glomerulären Gerinnseln, da bei hoher Dosis ($2,4 \mu\text{g/kg/min}$) nur noch 2 von 12 Tieren Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Die Verteilung der glomerulären Fibringerinnsel in einer einzelnen Niere mit positiver Reaktion war nicht homogen. Teilweise waren 3 bis 5 nebeneinanderliegende Glomerula völlig mit Gerinnseln

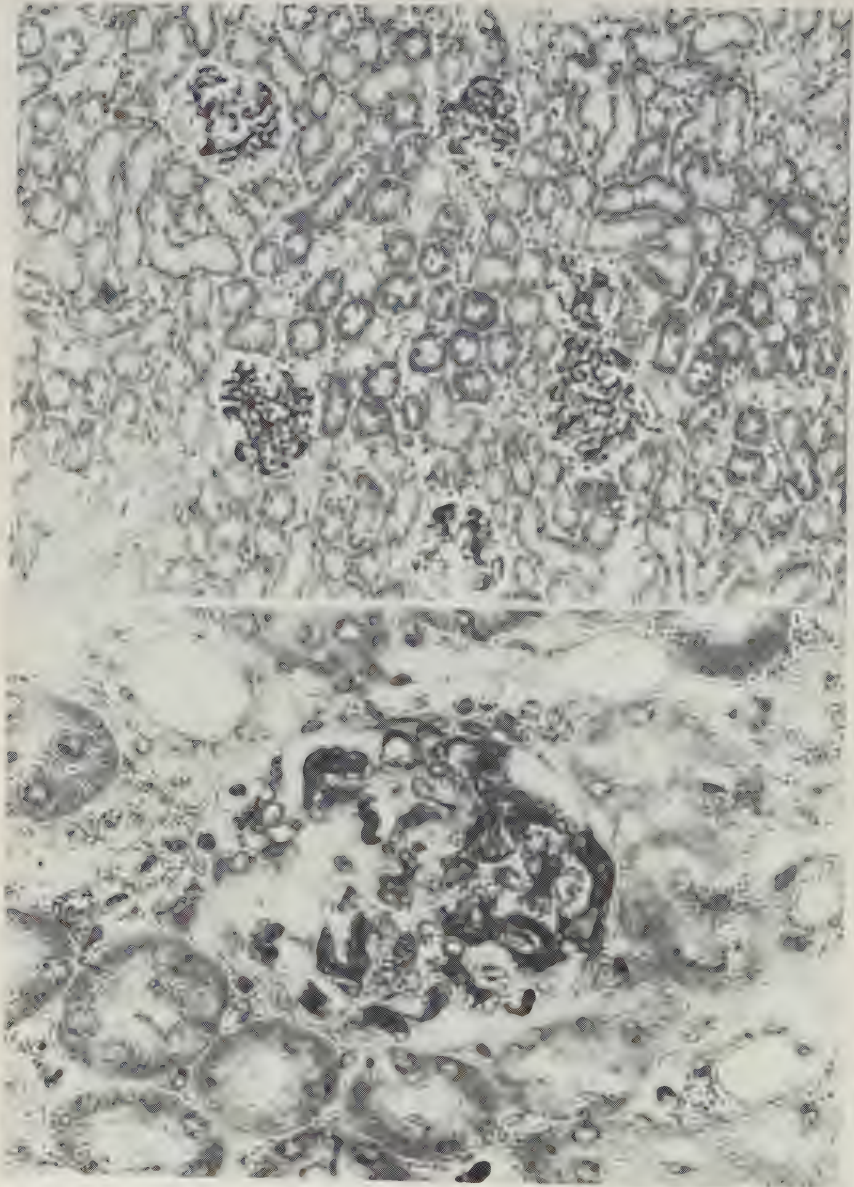


Abb. 17: Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren der Niere eines Kaninchens, dem Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin über 4 1/2 Stunden infundiert wurde. Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin-Färbung.

gefüllt, während die nächsten 3 bis 5 Glomerula frei von Gerinnseln waren. Ein Glomerulum mit Fibringerinnseln von 50 durchmusterten Glomerula wurde als positive Reaktion gewertet, da alle Tiere der Gruppe III bis V in Tab. 14 überhaupt keine glomerulären Gerinnsel in 4 histologischen Schnitten für jedes Tier aufwiesen. Bei Tieren, die ansteigende Dosen Noradrenalin erhielten, wurden in 40 bis 90% der Glomerula fibrinreiche Gerinnsel gefunden.

Interessanterweise konnte durch zusätzliche Infusion von Inosithin, das Plättchenfaktor-3-Aktivität besitzt, zusammen mit Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin (Tab. 14, Gruppe II) keine stärkere positive Reaktion hervorgerufen werden. Zwischen Gruppe I und II konnte kein signifikanter Unterschied der Häufigkeitsrate an glomerulären Gerinnseln festgestellt werden, ein Befund, der frühere Ergebnisse bestätigt, nach denen Inosithin keinen synergistischen Effekt auf die Erzeugung von glomerulären Thromben besitzt (MÜLLER-BERGHÄUS et al., 1967). Ebenso konnte Ellagsäure nicht durch Inosithin im Ansatz ersetzt werden, da von 12 Tieren nach Infusion von Inosithin, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin kein Tier Gerinnsel in den Glomerulumkapillaren zeigte (Tab. 14, Gruppe III).

Tieren der Gruppe IV (Tab. 14) wurden Ellagsäure, Inosithin und Epsilon-Aminocaprönsäure, aber kein Noradrenalin, infundiert. Bei der histologischen Untersuchung konnten keine Gerinnsel in den Nieren nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieser Gruppe weisen darauf hin, daß Nor-

adrenalin zur Lokalisation von FibringerinnseIn in der Niere notwendig ist, auch wenn das Gerinnungssystem ausreichend aktiviert und das fibrinolytische System ausreichend gehemmt ist.

Tiere der Gruppe V (Tab. 14) erhielten Ellagsäure, Inosithin und Noradrenalin, aber keine Epsilon-Aminocaprönsäure. Alle Glomerulumkapillaren waren frei von FibringerinnseIn. Das Fehlen glomerulärer FibringerinnseIn in dieser Gruppe kann als Beweis dafür angesehen werden, daß Hemmung der Fibrinolyse zur Erhaltung von FibringerinnseIn notwendig ist.

Die histologische Untersuchung der Lungen zeigte GerinnseIn in den Kapillaren und Arteriolen, die hauptsächlich aus Plättchen bestanden. Färbungen der Schnitte mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin zeigten nur in wenigen Fällen Fibrinfäden zwischen den Plättchenaggregaten. Diese PlättchengerinnseIn wurden nur bei Tieren der Gruppe I und II (Tab. 14) gefunden, denen Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin bzw. Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure, Noradrenalin und zusätzlich Inosithin infundiert worden war.

Kapilläre GerinnseIn fehlten in Leber und Nebenniere bei allen Tieren der Gruppe I bis V. PlättchengerinnseIn wurden in einigen Fällen in der Milz der Tiere von Gruppe I und II gefunden.

B. Elektronenoptische Untersuchungen beim Kaninchen

Durch elektronenoptische Untersuchungen wurden die ~~Bestandteile~~ der Gerinnsel in den Glomerulumkapillaren der Niere identifiziert und Änderungen der Ultrastruktur der Plättchen sowie Fibrin nachgewiesen (VASSALLI, SIMON und ROUILLER, 1964). So verursacht Thrombininfusion Fibrinfäden (fibrin strands), die eine Querstreifung mit einer Periodizität von ungefähr $200 \text{ \AA}$ aufweisen (MARGARETTEN, CSAVOSSY und McKAY, 1967). Beim klassischen Sanarelli-Shwartzman-Phänomen besteht die die Kapillaren verschließende Substanz aus Fibrinfäden mit typischer Periodizität (BOHLE, SITTE und MILLER, 1958). In der vorliegenden Untersuchung erschienen bei Anwendung der Lichtmikroskopie die glomerulären Fibringerinnsel identisch mit denen zu sein, wie man sie beim klassischen Sanarelli-Shwartzman-Phänomen findet. Durch elektronenoptische Untersuchung der Fibringerinnsel sollte die Identität mit Fibrin überprüft werden, zumal Ellagsäure in physiologischer Kochsalzlösung nur eine Suspension ergab. Dies ließ vermuten, daß Ellagsäure seinen gerinnungsaktivierenden Effekt durch seine Eigenschaft als kolloidale bzw. partikuläre Substanz entfaltet. Die Tatsache, daß kolloidale oder partikuläre Substanzen verschiedenen Ursprungs disseminierte intravasale Gerinnungsprozesse auslösen können, machte eine elektronenoptische Überprüfung der Befunde notwendig.

Einem Kaninchen wurde in üblicher Weise Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin in steigender Dosis infundiert.

Am Ende der Infusionen wurde in Narkose Material zur Elektronenmikroskopie entnommen.

Niere. - Die glomerulären Gerinnsel (Abb. 18 und 19) bestehen wie beim klassischen Sanarelli-Schwartzman-Phänomen aus Fibrinfäden und Thrombocyten, die sich in verschiedenen Aggregationsstadien mit Verlust der Granula befinden. Die Periodizität der Fibrinfäden mißt Abstände von $215 \text{ \AA}$, die als typisch für Fibrin angesehen werden können.

Lunge. - Gerinnsel wurden in den Pulmonalkapillaren und -arteriolen (Abb. 20, 21 und 22) gefunden. Außer Fibrin und Plättchen enthalten diese Gerinnsel noch einige degranulierte Leukocyten. Die Gerinnsel in den kleinen Arterien bestehen aus Fibrin, sich auflösenden Blutplättchen und Leukocyten sowie aus unregelmäßigen Massen einer offensichtlich "exogenen" Substanz. Diese Substanz wies eine unregelmäßige Form auf und schien aus feinen Schollen eines elektronenoptisch sehr dichten Materials zu bestehen, das vakuoläre und elektronenoptisch leere Räume von unregelmäßiger Größe und Form bildete.

Fibrinablagerungen wurden außer in Niere und Lunge auch in geringen Mengen in den Sinusoiden der roten Milzpulpa sowie in den Lebersinusoiden gefunde. Bruchstücke der partikulären Substanz, die in den Pulmonalgerinnseln beobachtet wurde, ließen sich gelegentlich auch in glomerulären Gerinnseln sowie in den Kupffer'schen Zellen der Leber nachweisen.

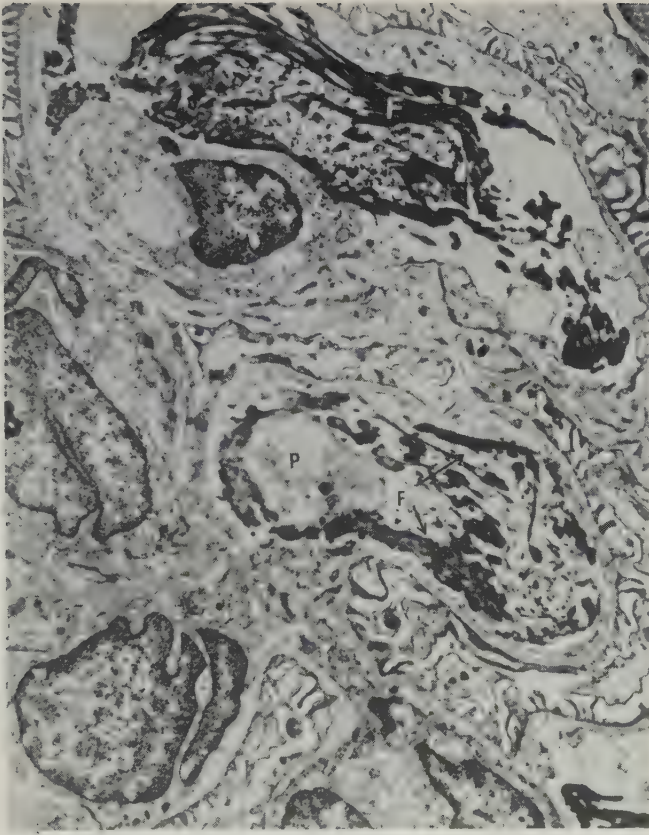


Abb. 18: Glomerulum mit Fibrinfäden, die das Lumen der Kapillarschlingen teilweise verschließen. Im Mittelpunkt der Abbildung: ein degranuliertes Blutplättchen (P). F = Fibrin; Vergrößerung: $\times 11\,200$. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

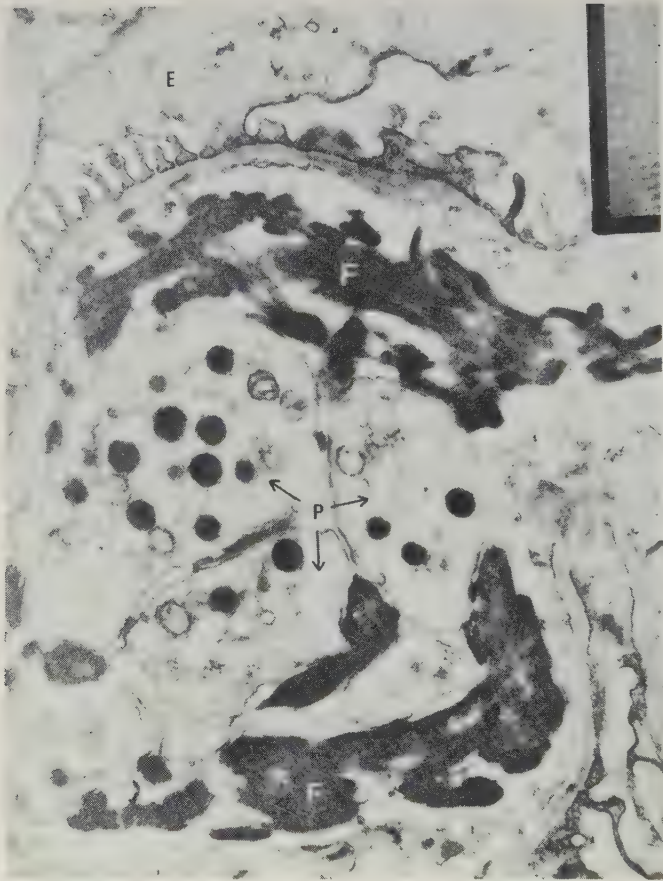


Abb. 19: Stärkere Vergrößerung eines Gerinnsels in einer Glomerulumkapillare. Blutplättchen (P) sind teilweise degranuliert. F = Fibrin; E = Epithelzelle. Vergrößerung: x 17 600. Ausschnitt: Noch stärkere Vergrößerung zur Veranschaulichung der Periodizität des Fibrins (215 Å). Vergrößerung: x 38 850. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHHAUS und CRUSE, 1969).

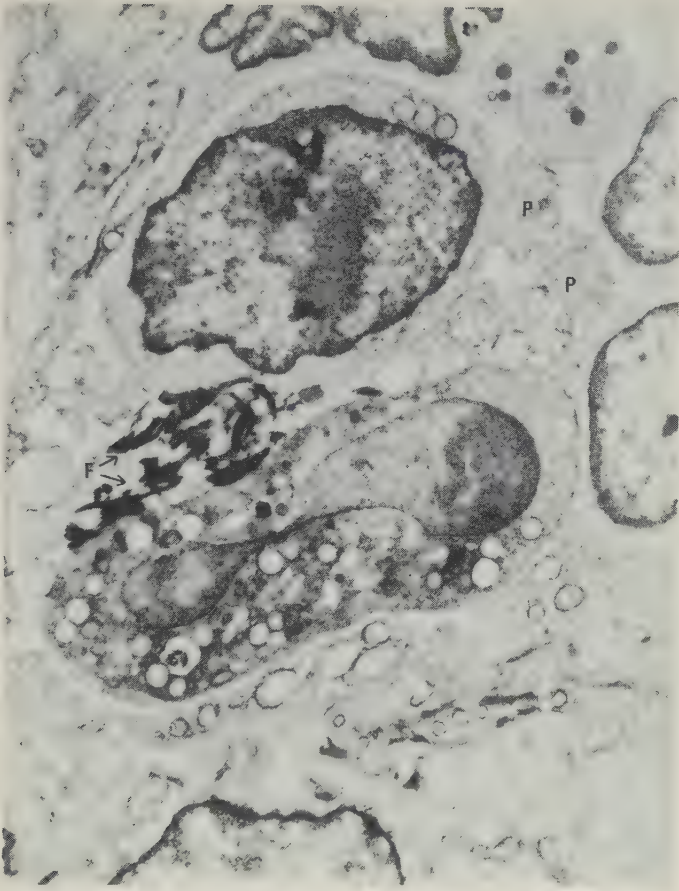


Abb. 20: Lungenkapillare, verschlossen mit Fibrin (F), degranulierten Blutplättchen (P) und einem teilweise degranulierten polymorphkernigen Leukocyten (L). Vergrößerung: $\times 10\,640$. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHaus und CRUSE, 1969).

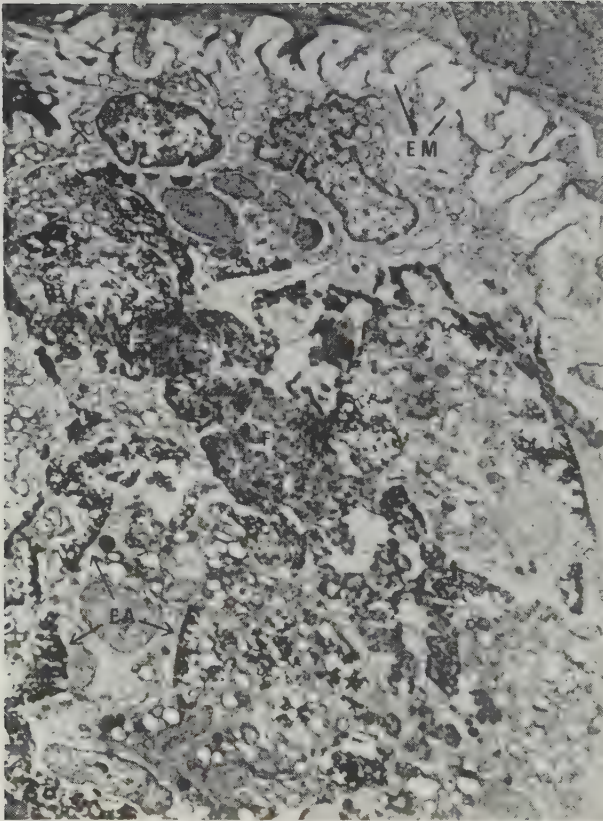


Abb. 21: Gerinnsel in einer kleinen Lungenarterie. Die Elastica ist stark gewunden. Ellagsäure (EA) ist unregelmäßig im Gerinnsel verteilt. EM = Elastica; EA = Ellagsäure; F = Fibrin. Vergrößerung: x 7 200. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

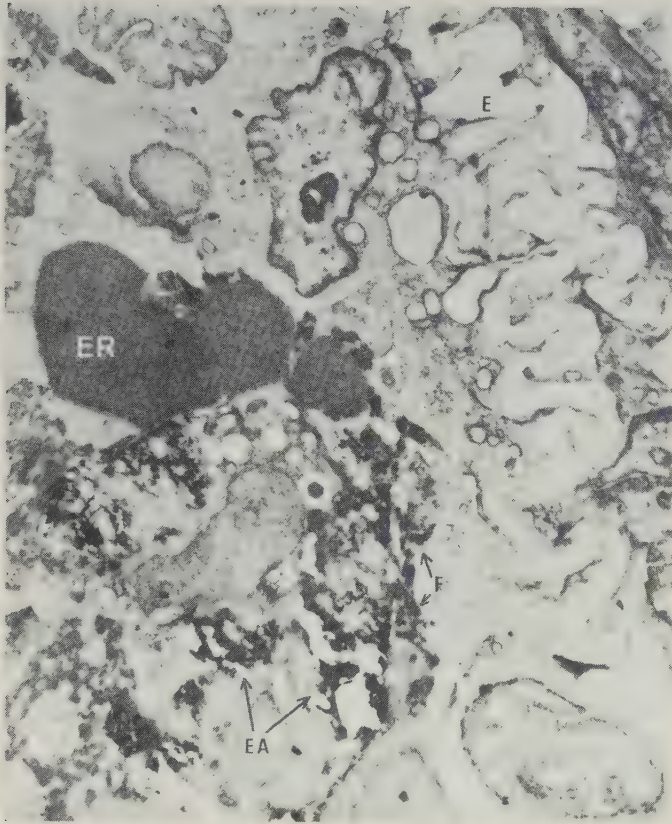


Abb. 22: Stärkere Vergrößerung eines Gerinnsels in einer kleinen Lungenarterie. E = Elastica; EA = Ellagsäure; F = Fibrin; ER = Erythrocyt. Vergrößerung: x 8 000. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

In vitro-Versuche. - Um die partikuläre Substanz, die in den Gerinnseln der Pulmonalarteriolen beobachtet wurde, zu identifizieren, wurde Ellagsäure mit Plasma vermischt und in Lösung gebracht, das Plasma rekalkifiziert und das entstandene Gerinnsel in Osmium fixiert und für elektronenmikroskopische Untersuchungen weiter aufgearbeitet. Abbildung 23 zeigt, wie sich Ellagsäure in vitro elektronenoptisch darstellt. Man erkennt die gleichen unregelmäßigen elektronenoptisch dichten Schollen, die an vakuoläre Räume angrenzen. Diese Abbildungen beweisen, daß Ellagsäure eine partikuläre Substanz darstellt.

C. Experimente am Affen

Da am Affen nur eine begrenzte Anzahl von Experimenten durchgeführt werden konnte, wird jeder einzelne Versuch als Einzelfall besprochen.

Infusion von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin beim Affen

Morphologische Veränderungen. - Affen, denen Ellagsäure, Inosithin Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin infundiert worden waren, wurden 5 - 5 1/2 Stunden nach Infusionsbeginn getötet (Tab. 15, Tier Nr. 1, 2, 3 und 5). Bei der Obduktion fiel eine Stauung und Hyperämie der thorakalen und abdominalen Organe auf. Die Lungen zeigten Blutungen verschiedener Größe. Der gastrointestinale Trakt wies bis auf

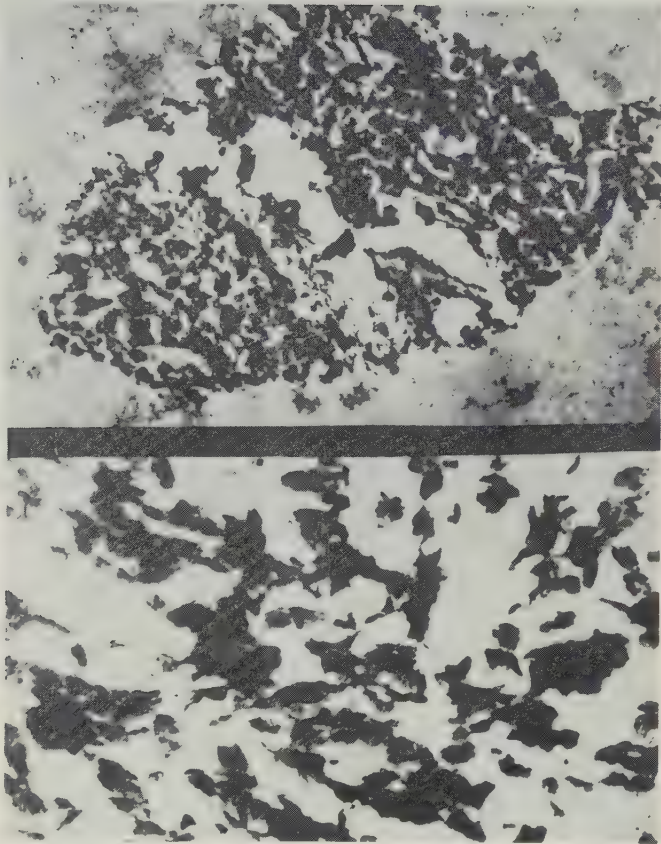


Abb. 23: Ellagsäure in vitro. Der partikuläre Charakter der Substanz ist deutlich erkennbar. Vergrößerung: x 7 600 (A), x 30 400 (B). (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHaus und CRUSE, 1969).

Affe Nr. 1 keine pathologischen Veränderungen auf. Bei Tier Nr. 1, das Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin erhalten hatte und 5 Stunden nach Infusionsbeginn getötet wurde, fielen ausgiebige Blutungen im Bereich des Intestinums auf. Leber, Milz und Niere waren vergrößert und gestaut, aber sonst unauffällig. Die Nebennieren waren bei allen Tieren bis auf Affe Nr. 1 normal. Die Nebenniere des Tieres Nr. 1 wies eine stark ausgeprägte doppelseitige Nebennierenblutung auf.

Die histologische Untersuchung der Organe ergab deutliche Unterschiede. In Tabelle 15 ist die Häufigkeitsrate der glomerulären Gerinnselbildung bei Affen zusammengestellt, denen Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin in verschiedenen Kombinationen infundiert wurde. Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren wurden bei Affen nur dann beobachtet, wenn die Tiere gleichzeitig Ellagsäure und Epsilon-Aminocaprinsäure erhalten hatten (Abb. 24). Wurde jedoch Ellagsäure oder Epsilon-Aminocaprinsäure weggelassen, so konnten keine glomerulären Fibringerinnsel nachgewiesen werden. Eine zusätzliche Infusion von Inosithin hatte keinen synergistischen Effekt auf die Ausbildung von glomerulären Fibringerinnseln. Ebenso konnte Inosithin Ellagsäure als Trigger des intravasalen Gerinnungsprozesses nicht ersetzen.

Einem Affen wurde Ellagsäure, Inosithin und Epsilon-Aminocaprinsäure, aber kein Noradrenalin, infundiert. Bei diesem Affen wurden in 90%



Abb. 24: Sanarelli-Schwartzman-Phänomen beim Rhesusaffen. Fibrinreiche Gerinnsel in den Glomerulumkapillaren einer Niere. Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen wurde durch Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin ausgelöst. Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin-Färbung.

Tab. 15: Die Wirkung von Ellagsäure (ELLAGS.), Inosithin (INOS.), Epsilon-Aminocapronsäure (EACA), Noradrenalin (N. A.) und Dibenzylhine (DIB.) auf das Auftreten von glomerulären Fibringerinneln und auf hämatologische Parameter beim Affen. (Aus: MCKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Gabe von	ELLAGS. — EACA N. A. —	ELLAGS. INOS. EACA N. A. —	ELLAGS. INOS. EACA —	— INOS. EACA N. A. —	ELLAGS. INOS. — N. A. —	ELLAGS. — EACA N. A. DIB.	ELLAGS. — EACA N. A. DIB.
Häufigkeitsrate der Glomerula mit Fibringerinneln in %	100%	100%	90%	0%	0, 5%	0%	24%
Abfall der Leukozytenzahl	stark	stark	stark	kein Abfall	stark	kein Abfall	kein Abfall
Abfall der Plättchenzahl	stark	stark	stark	leicht	stark	leicht	stark
Fibrinogenabfall	100%	75%	70%	40%	25%	65%	60%
Abfall der Faktor-V-Aktivität	stark	stark	stark	kein Abfall	stark	stark	stark
Partielle Thromboplastinzzeit	verlängert	verlängert	verlängert	keine Änderung	leicht verlängert	verlängert	verlängert

der Glomerula Fibrinpräzipitate gefunden. Dies war unerwartet, da bei Kaninchen keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden konnten, wenn Noradrenalin im Infusionsansatz weggelassen wurde (Tab. 14, Gruppe IV). Die Versuchsanordnung beim Kaninchen war insofern unterschiedlich, als die Kaninchen im Vergleich zu den Affen nicht narkotisiert waren. Dieses unerwartete Ergebnis beim Affen kann durch die Beobachtung erklärt werden, daß Anästhesie die Freisetzung von Katecholaminen stimuliert (PRICE, 1966). Versuche mit dem Alpha-Rezeptorenblocker Dibenzylolamine, die später beschrieben werden, unterstützen diese Vermutung, da es gelang, das Auftreten von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren durch Vorbehandlung der Tiere mit Dibenzylolamine zu verhindern.

Die histologische Untersuchung der übrigen Organe zeigte zahlreiche Gerinnsel in den Lungen der Tiere Nr. 1 und 2. Diese Gerinnsel ließen sich kaum mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin anfärben, was dafür spricht, daß sie hauptsächlich aus Zellen (Plättchen und Leukocyten) und weniger aus Fibrin bestehen. Weiterhin wurden Fibrinpräzipitate in Nebennieren und Milz der Affen Nr. 1 und 2 gefunden.

Hämatologische Veränderungen. - Die Ergebnisse sind in Tab. 15 zusammengestellt. Affe Nr. 1 und 2, denen Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin infundiert worden war (Affe Nr. 2 erhielt zusätzlich Inosithin), zeigten Veränderungen, wie sie typisch für intravasale Gerinnungsprozesse sind: kontinuierlicher Abfall der Plättchenzahl, des

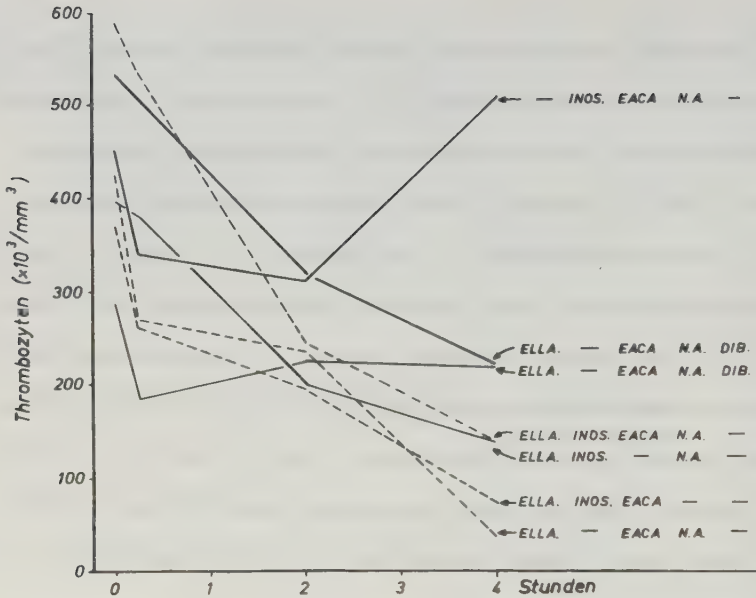


Abb. 25: Die Wirkung von Ellagsäure (ELLA.), Inosithin (INOS.), Epsilon-Aminocapronsäure (EACA), Noradrenalin (N.A.) und Dibenzyllyne (DIB.) auf die Plättchenzahl. Die Kurven geben unterschiedliche Kombinationen bei einzelnen Affenversuchen wieder. (Aus: MCKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

Fibrinogenspiegels und der Faktor-V-Aktivität (Abb. 25-27). Die partielle Thromboplastinzeit war am Ende des Experimentes erheblich verlängert (Abb. 28). Die Leukocytenzahl verhielt sich bei den einzelnen Tieren recht unterschiedlich (Abb. 29). In den ersten 2 Stunden nach Infusionsbeginn kam es zu einer starken Leukocytose. Im weiteren Verlauf des Experimentes fielen die Leukocytenzahlen wieder annähernd auf die Ausgangswerte ab.

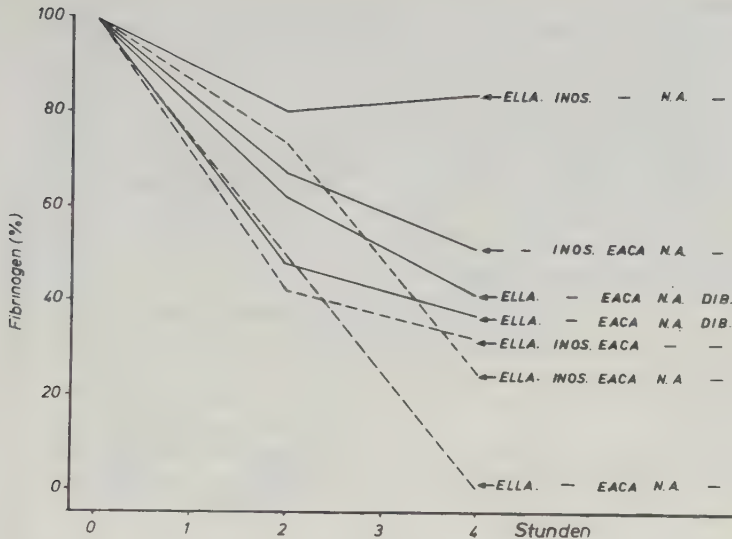


Abb. 26: Die Wirkung von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocapronsäure, Noradrenalin und Dibenzyline auf den Fibrinogenspiegel. Die Kurven geben unterschiedliche Kombinationen bei einzelnen Affenversuchen wieder. Abkürzungen wie in Abbildung 25. (Aus: MCKAY, MÜLLER-BERGHaus und CRUSE, 1969).

Ähnliche Veränderungen der hämatologischen Parameter wurden bei Affe Nr. 3 beobachtet, dem kein Noradrenalin infundiert worden war (Tab. 15). Bei diesem Tier kam es zur intravasalen Gerinnung mit Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren der Niere.

Bei Affe Nr. 4 wurden Fibringerinnsel nicht gefunden, da dieses Tier keine Ellagsäure erhalten hatte (Tab. 15). Dies spiegelt sich in den hämatologischen Werten wieder: Faktor-V-Aktivität und partielle Throm-

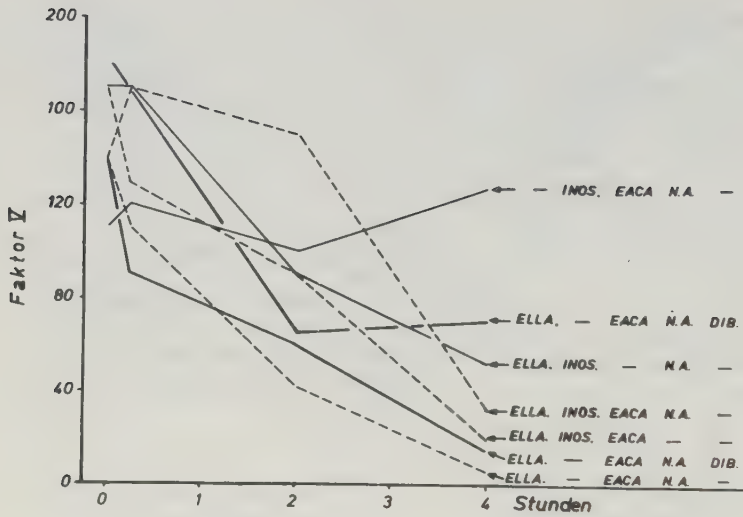


Abb. 27: Die Wirkung von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocapronsäure, Noradrenalin und Dibenzylin auf die Faktor-V-Aktivität beim Affen. Abkürzungen wie in Abbildung 25. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE, 1969).

boplastinzeit änderten sich nicht signifikant; Plättchenzahl und Fibrinogenspiegel verminderten sich nur minimal; eine Leukocytose konnte festgestellt werden, aber kein Abfall der Leukocytenzahl am Ende des Experimentes, wie es bei den Affen Nr. 1-3 auftrat.

Affe Nr. 5 erhielt keine Epsilon-Aminocapronsäure. Bei diesem Affen kam es zwar zur intravasalen Gerinnung, aber nicht so ausgeprägt wie bei den Tieren Nr. 1-3. Plättchenzahl und Faktor-V-Aktivität waren vermindert. Jedoch fiel der Fibrinogenspiegel nur um 25% ab, und die partielle Thromboplastinzeit war nicht signifikant verlängert. Eine

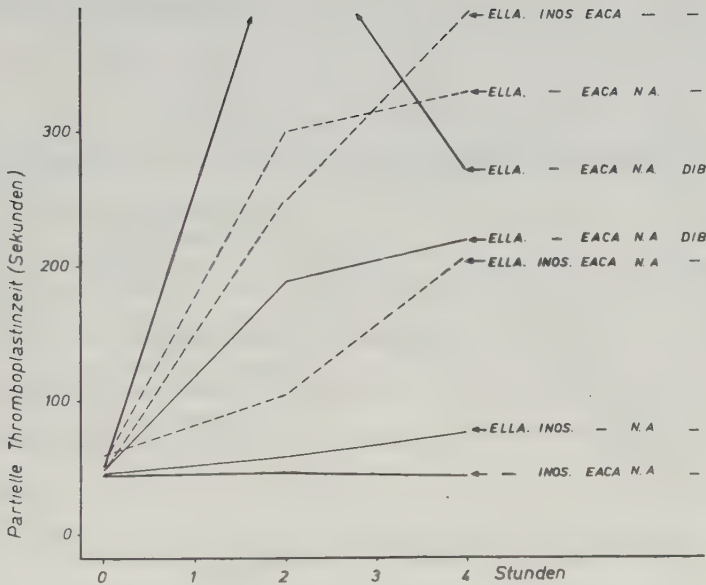


Abb. 28; Die Wirkung von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocapronsäure, Noradrenalin und Dibenzylamine auf die partielle Thromboplastinzeit beim Affen. Abkürzungen wie in Abbildung 25. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHHAUS und CRUSE, 1969).

Leukocytose mit nachfolgendem Abfall der Leukocytenzahl wurde wie bei den Tieren festgestellt, bei denen es zur ausgeprägten intravasalen Gerinnung gekommen war.

Hämodynamische Veränderungen. - Von früheren Untersuchungen her war bekannt, daß Epsilon-Aminocapronsäure einen Anstieg des systolischen und diastolischen Blutdruckes auslösen kann. Ellagsäure verursachte jedoch einen ausgeprägten Abfall des systolischen wie diastolischen Blut-

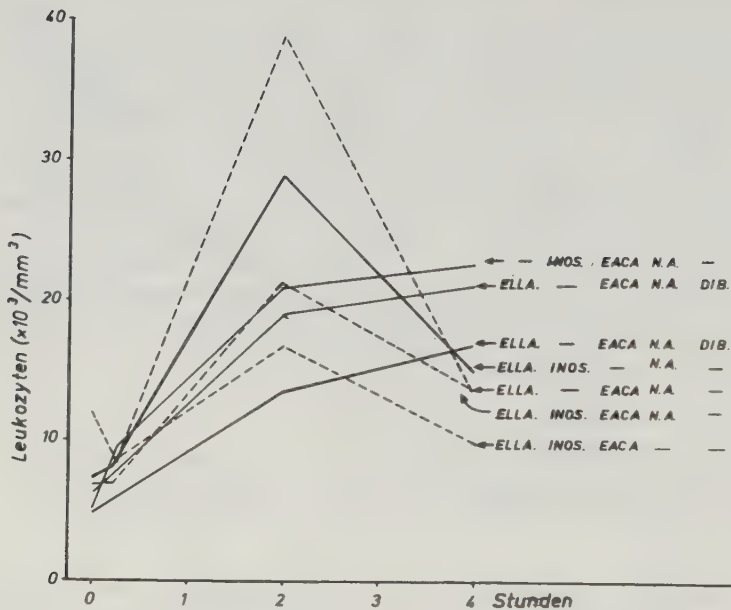


Abb. 29: Die Wirkung von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocapronsäure, Noradrenalin und Dibenzylin auf die Leukozytenzahl beim Affen. Abkürzungen wie in Abbildung 25. (Aus: McKAY, MÜLLER-BERGHHAUS und CRUSE, 1969).

druckes, wie es bei Affe Nr. 3 festgestellt wurde. Dieser Effekt der Ellagsäure trat bei den Tieren Nr. 1, 2, 4 und 5 nicht auf, da er durch die Gabe von Noradrenalin überspielt wurde. Obwohl Affe Nr. 3 kein Noradrenalin erhielt, entwickelte sich in der Spätphase des Experimentes eine Hypertension, nachdem der Affe sich von der anfänglichen durch Ellagsäure verursachten Hypotension erholt hatte. Tiere, die Noradrenalin erhalten hatten, wurden im Verlauf des Experimentes immer

stärker refraktär gegenüber diesem Hormon.

D. Hemmung der Fibrinbildung in den Glomerulumkapillaren beim Affen durch Gabe von Dibenzylamine

Dieses Experiment wurde durchgeführt, um die Bedeutung von Noradrenalin näher zu untersuchen und um festzustellen, ob Freisetzung von endogenem Adrenalin für das positive Ergebnis bei Affe Nr. 3 verantwortlich sein könnte, dem kein Noradrenalin infundiert worden war, der aber nach Infusion von Ellagsäure, Inosithin und Epsilon-Aminocapronsäure Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren aufwies.

Morphologische Veränderungen. - Affe Nr. 6 und 7, die außer Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin noch Dibenzylamine erhalten hatten (Tab. 15) wurden 4 und 5 Stunden nach Infusionsbeginn getötet. Makroskopisch konnten keine pathologischen Veränderungen nachgewiesen werden. Die histologische Untersuchung zeigte bei einem Affen (Tab. 15, Affe Nr. 7) Fibringerinnsel in 24% der Glomerula, während die Nieren des Affen Nr. 6 wie alle anderen Organe frei von Gerinnseln waren.

Hämatologische Veränderungen. - Bei beiden Affen wurde eine intravasale Gerinnung festgestellt; die Plättchenzahl bei dem Tier ohne Fibringerinnsel fiel nur gering ab, während es bei dem anderen Affen zu einem starken Abfall der Plättchenzahl kam (Abb. 25). Fibrinogenspiegel und

Faktor-V-Aktivität waren bei beiden mit Dibenzylamine behandelten Affen stark erniedrigt (Abb. 26 und 27). Ebenso war die partielle Thromboplastinzeit erheblich verlängert (Abb. 28). Der fehlende Abfall der Leukocytenzahl in der Spätphase des Experimentes war deutlich ausgeprägt (Abb. 29). Diese Beobachtung wurde bei den vorherigen Versuchen nur bei Affe Nr. 4 gemacht, bei dem es zu keiner intravasalen Gerinnung gekommen war, da Ellagsäure fehlte.

Hämodynamische Veränderungen. - Fünf Minuten nach intravenöser Injektion von Dibenzylamine kam es zu einem Abfall des Blutdruckes. Die niedrigsten Blutdruckwerte von 90/45 und 105/45 mm Hg wurden ungefähr 30 Minuten nach Dibenzylamineinjektion beobachtet. Nach Beginn der Ellagsäureinfusion fiel der Blutdruck auf sehr niedrige Werte um 45 mm Hg ab. Diese niedrigen Werte normalisierten sich wieder nach Beginn der Noradrenalininfusion, 5 Minuten nach Beginn der Ellagsäureinfusion. Im Verlauf des gesamten Experimentes stiegen die systolischen Blutdruckwerte nie über 120 mm Hg. Bei Affe Nr. 7 kam es 3 3/4 Stunden nach Beginn der Noradrenalininfusion, zu einem Zeitpunkt, als 2,5 $\mu\text{g/kg/min}$ Noradrenalin infundiert wurden, zu Blutdruckwerten bis 120 mm Hg, ein Zeichen dafür, daß die Blockade der Alpharezeptoren nicht mehr ausreichend war.

Besprechung der Ergebnisse

Durch gleichzeitige Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin konnte sowohl beim Kaninchen als auch beim Affen eine Verbrauchskoagulopathie mit Ausbildung von Fibringerinnsele in den Glomerulumkapillaren der Niere ausgelöst werden. Diese morphologischen wie auch hämatologischen Veränderungen können als charakteristisch für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen aufgefaßt werden. Unter Verwendung dieser chemisch definierten Substanzen gelang es, die biologischen Effekte des Endotoxins nachzuahmen, die zur Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens notwendig sind. Durch Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin wurden mindestens 3 verschiedene pathophysiologische Mechanismen imitiert:

1. Auslösung der intravasalen Gerinnung; 2. Hemmung von Systemen, die für die Abräumung von Gerinnungszwischen- und -endprodukten verantwortlich sind, wie das fibrinolytische System bzw. das retikulo-endotheliale System; und 3. hämodynamische Veränderungen in der Mikrozirkulation. Offensichtlich sind diese drei Mechanismen miteinander verknüpft, so daß Stimulierung eines Mechanismus gleichzeitig die anderen beiden Mechanismen sekundär mitbeeinflußt (Abb. 30). Zum Beispiel wird ein intravasaler Gerinnungsprozeß von einer sekundären Fibrinolyse (MERSKEY et al., 1964; MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY, 1964) und einer Störung der Mikrozirkulation (CROWELL und READ, 1955; LASCH, 1963; ROKA, 1967) gefolgt. Andererseits beeinflußt die Hem-

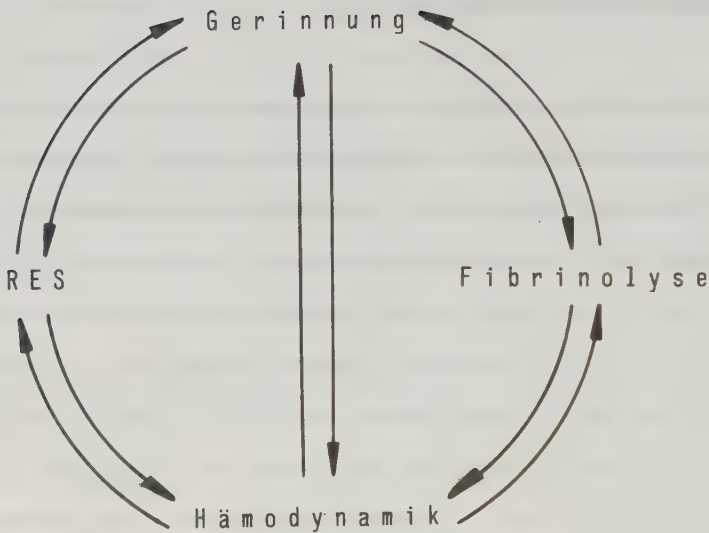


Abb. 30: Schematische Darstellung der Beziehungen zwischen Gerinnung, Fibrinolyse, RES und Hämodynamik.

Gerinnung und RES: LASCH und ROKA, 1953;
SPAET et al., 1961;
LEE, 1962;
DEYKIN et al., 1968.

Gerinnung und Fibrinolyse: MERSKEY et al., 1964;
MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY, 1964;
IATRIDS, 1966;
GRAEFF, 1968.

Hämodynamik und Gerinnung: LASCH, MECHELKE und NUSSER, 1957;
LASCH et al., 1958;
HARDAWAY, 1966.

Hämodynamik und RES: FINE, 1958;
HERSHEY und ZWEIFACH, 1961.

Hämodynamik und Fibrinolyse: LASCH et al., 1961;
HARDAWAY, 1966.

mung eines Systems auch die anderen beiden Mechanismen; so vermindert Dibenzylin, ein Alpha-Rezeptorenblocker des adrenergen Systems, die Präzipitation von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren der Niere bei trächtigen Ratten, denen Endotoxin injiziert wurde. Dibenzylin hat keinen direkten Effekt auf das Gerinnungs- oder Fibrinolyse-system, vermindert aber die intravasale Gerinnung, die durch bakterielles Endotoxin ausgelöst wird (MÜLLER-BERGHAS, DAVIDSON und McKAY, 1967).

Aus der vorliegenden Untersuchung können mehrere Schlußfolgerungen gezogen werden:

Ellagsäure. - Intravenös infundierte Ellagsäure kann eine "Hyperkoagulabilität" hervorrufen, die als vermehrte Gerinnungsneigung des Blutes auf Grund einer Störung des Gerinnungsequilibriums definiert ist (BOTTI und RATNOFF, 1964). Wir konnten jedoch Fibringerinnsel nur dann hervorrufen, wenn außer der Aktivierung des Gerinnungssystems durch Ellagsäure gleichzeitig das fibrinolytische System gehemmt und das adrenerge System stimuliert wurde. Eine experimentelle Hyperkoagulabilität kann auch durch intravenöse Infusion von Thrombin ausgelöst werden. Ebenso gelingt es, mit diesem Enzym ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen hervorzurufen, wenn die Phagocytosefunktion des retikuloendothelialen Systems vermindert oder das fibrinolytische System gleichzeitig mit der Thrombininfusion gehemmt wird (LEE, 1962; MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY, 1964). In vitro stellt die Aktivierung des

Hageman-Faktors den ersten Schritt im Aktivierungsmechanismus des "intrinsic" Gerinnungssystems dar (MACFARLANE, 1964; DAVIE und RATNOFF, 1964).

Ellagsäure setzt die Gerinnung durch einen direkten Effekt in Gang, was durch folgende Befunde bewiesen ist: 1. In vitro vermag Ellagsäure den Hageman-Faktor zu aktivieren (RATNOFF und CRUM, 1964). 2. In vivo verkürzt Ellagsäure die Silikongerinnungszeit, was als Beweis für eine in vivo-Aktivierung des Hageman-Faktors angesehen wird (BOTTI und RATNOFF, 1964). 3. Wenn Ellagsäure in unserem Versuchsansatz weggelassen wurde, kam es zu keiner Fibrinbildung in den Glomerulumkapillaren. In gleicher Weise wurden keine Veränderungen der Gerinnungsparameter beobachtet, die charakteristisch für intravasale Gerinnungsprozesse sind, nämlich Abfall der Plättchenzahl, des Fibrinogenspiegels und der Faktor-V-Aktivität sowie eine Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit, wenn den Tieren keine Ellagsäure infundiert wurde.

Epsilon-Aminocaprönsäure. - Epsilon-Aminocaprönsäure hemmt in vitro wie auch in vivo das fibrinolytische System durch Hemmung der Plasminogenaktivierung (ALKJAERSIG, FLETCHER und SHERRY, 1959; SHERRY et al., 1959). Es wurde nachgewiesen, daß Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren der Rattenniere wieder aufgelöst werden können (MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY, 1964). Wenn Epsilon-Aminocaprönsäure verabreicht wurde, konnte die spontane Auflösung

der Gerinnsel in den Glomerulumkapillaren verhindert werden. In der vorliegenden Untersuchung wurden Fibringerinnsel lichtmikroskopisch nur dann gesehen, wenn Epsilon-Aminocaprönsäure zusammen mit Ellagsäure und Noradrenalin infundiert wurde. Fehlte jedoch Epsilon-Aminocaprönsäure, konnte wohl eine Aktivierung des Gerinnungssystems beobachtet werden, wie sie sich im Abfall der Plättchenzahl und der Faktor-V-Aktivität ausdrückte. Der Abfall des Fibrinogenspiegels war jedoch nur minimal im Vergleich zu den Experimenten, in denen Epsilon-Aminocaprönsäure zusammen mit Ellagsäure und Noradrenalin infundiert wurde.

Noradrenalin-Dibenzyliline. - Noradrenalin und Endotoxin haben gemäß unseren Untersuchungen einen synergistischen Effekt auf die Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens. Alleinige Injektion von Endotoxin vermag in der Regel keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren hervorzurufen. Wurde jedoch im Anschluß an die Endotoxininjektion Noradrenalin infundiert, so kam es zur glomerulären Fibrinbildung. In diesem Versuchsansatz muß aber berücksichtigt werden, daß Noradrenalin neben seiner Eigenschaft als Pressoramin eine reversible Plättchenaggregation verursachen kann (O'BRIEN, 1964). Beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen scheint die Wirkung des Noradrenalins auf die vasomotorische Reaktion der kleinen Blutgefäße mit sekundärer Störung der Mikrozirkulation größere Bedeutung zu haben, da durch Dibenzyliline-Vorbehandlung wohl das Phänomen, nicht aber der Abfall der Plättchenzahl,

verhindert werden konnte. In den Gebieten der gestörten Mikrozirkulation mit Stase scheint hyperkoagulables Blut viel eher zu gerinnen.

Die Bedeutung des adrenergen Systems für die Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens wird durch folgende Befunde unterstützt:

1. Injektion von Endotoxin verursacht einen Anstieg der Katecholamine im Blut (HEIFFER, MUNDY und MEHLMAN, 1960; ROSENBERG et al., 1961).
2. Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen der trächtigen Ratte kann durch Alpha-Rezeptorenblocker des adrenergen Systems verhindert werden (MÜLLER-BERGHAS und McKAY, 1967).
3. Die Nierenrindennekrose des klassischen Sanarelli-Shwartzman-Phänomens, hervorgerufen durch Doppelinjektion von Endotoxin beim Kaninchen, kann an der Niere verhindert werden, bei der der Sympathikus durchtrennt wird (PALMERIO et al., 1962).
4. Wenn in der besprochenen Untersuchungsreihe Ellagsäure und Epsilon-Aminocaprinsäure, nicht aber Noradrenalin infundiert wurden, kam es beim Kaninchen zu keiner Fibrinbildung in den Glomerulumkapillaren. Jedoch wurden beim Affen bei Fehlen von Noradrenalin Fibringerinnsel lichtmikroskopisch festgestellt. Es kann angenommen werden, daß Freisetzung von endogenen Katecholaminen durch die Narkose des Affen für diesen Effekt verantwortlich war, da durch Blockade

der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems kapilläre Fibrinbildung verhindert werden konnte, auch wenn Noradrenalin zusammen mit Ellagsäure und Epsilon-Aminocapronsäure infundiert wurde.

Inosithin. - Inosithin ist eine Sojabohnen-Phospholipidpräparation, die in verschiedenen in vitro-Testsystemen anstelle von Plättchenfaktor 3 Verwendung findet (CONNOR und CARTER, 1958). Verschiedene Autoren vermuteten, daß Plättchenaggregation durch Endotoxin mit Freisetzung von Prokoagulantien einen intravasalen Gerinnungsprozeß in Gang setzt. Speziell dem Plättchenfaktor 3 wurde die Bedeutung als Trigger der intravasalen Gerinnung zugeschrieben. Bei Kaninchen wie auch bei Affen konnten jedoch durch Infusion von Sojabohnen-Phospholipidpräparationen keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden, auch wenn Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin infundiert wurden. Inosithin konnte weder die prokoagulatorische Wirkung der Ellagsäure ersetzen, noch vermochte es, die Reaktion zusammen mit Ellagsäure zu verstärken. Dies wird verständlich, wenn man die elektronenoptischen Befunde berücksichtigt, bei denen Ellagsäure sich als partikuläre Substanz darstellte. Es ist seit langem bekannt, daß partikuläre Substanzen sowohl in vitro als auch in vivo Plättchenaggregation verursachen können. Deshalb ist es wahrscheinlich, daß Ellagsäure in den vorliegenden Experimenten eine doppelte Funktion erfüllte: es aktivierte den Hageman-Faktor und aggregierte gleichzeitig die Blutplättchen.

G. Diskussion

Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen wird durch eine Verlegung der Glomerulumkapillaren der Niere mit fibrinreichen Präzipitaten verursacht. Nachweis und Identifizierung des Fibrins in den Glomerulumkapillaren ebenso wie der Befund eines komplexen Gerinnungsdefektes (Verbrauchskoagulopathie) im Verlauf eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens ließen vermuten, daß ein disseminierter intravasaler Gerinnungsprozeß das zentrale Geschehen in der Pathogenese des Phänomens darstellt. Diese Vermutung wurde durch Befunde bewiesen, die zeigten, daß das Phänomen durch Antikoagulantien verhindert werden kann (GOOD und THOMAS, 1953; BOHLE, SITTE und MILLER, 1958; McKAY und SHAPIRO, 1958; KLEINMAIER et al., 1959).

Disseminierte intravasale Gerinnung (Verbrauchskoagulopathie) beginnt mit dem Eintritt prokoagulatorischen Materials oder gerinnungsfördernder Aktivität in das Blutgefäßsystem; schreitet fort zum Stadium der freien Thrombinaktivität im zirkulierenden Blut, das mit Plättchenaggregation und Fibrinbildung einhergeht; wird von einer Aktivierung des fibrinolytischen Systems mit Bildung von Fibrin- bzw. Fibrinogensplitprodukten begleitet und ist nicht abgeschlossen, bis der hämostatische Mechanismus und der vasomotorische Apparat zur Norm zurückgekehrt sind. Eine Verbrauchskoagulopathie kann, muß aber nicht unbedingt zur Verlegung von Arteriolen, Kapillaren und Venolen verschiedener

Organe mit fibrinreichen Präzipitaten führen (MÜLLER-BERGHHAUS, 1969).

Wie in den vorliegenden Untersuchungen nachgewiesen werden konnte, ist die Präzipitation von Fibrin in den Glomerulumkapillaren der Niere von einer Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems abhängig. Nach Hemmung der Alpha-Rezeptoren durch Dibenamine oder Dibenzylamine trat das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen bei trächtigen Ratten nur vereinzelt auf, obwohl ein intravasaler Gerinnungsprozeß noch ablief. Für die Präzipitation von Fibrin in den Glomerulumkapillaren sind die Alpha-Rezeptoren in der Niere selbst verantwortlich. PALMERIO et al. (1962) konnten nämlich zeigen, daß durch einseitige Sympathektomie vor Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens die Ausbildung einer Nierenrindennekrose nur an der denervierten Niere verhindert werden kann.

Verabreicht man nicht trächtigen Kaninchen, Ratten oder Affen eine einmalige Endotoxininjektion, so entstehen in der Regel nicht ausreichend Fibrinpräzipitate in der Niere, um sie lichtmikroskopisch erfassen zu können. Jedoch kann man in anderen Organen außer der Niere, z. B. in Lunge, Leber oder Milz, Fibrin nach einmaliger subletaler Endotoxininjektion beim Kaninchen nachweisen (APITZ, 1934; GERBER, 1936; BRUNSON, GAMBLE und THOMAS, 1955; McKAY und SHAPIRO, 1958; KRECKE, 1964). Unter der Voraussetzung, daß es sich um ein generalisiertes, auf alle Kapillaren des Körpers bezogenes Phänomen handelt,

sollte die Fibrinpräzipitation gleichmäßig auf alle Organe verteilt sein, zumindest homogen in Beziehung zur durchströmenden Blutmenge pro Zeiteinheit. Da die Niere das bei weitem am besten durchblutete Organ ist, wäre es am wahrscheinlichsten, nach einmaliger Endotoxininjektion Fibrin in der Niere zu finden. Dies ist aber nicht der Fall. Zwei Erklärungen können für diese Beobachtung herangezogen werden: 1. Lokalisationsfaktoren sorgen dafür, daß Fibrin in bestimmten Organen bzw. bestimmten Kapillarbezirken bevorzugt abgelagert wird, und 2. Fibrin fällt auch in den Nierenkapillaren aus, wird aber durch Abbaumechanismen, die in anderen Organen nicht so stark zur Wirkung kommen, wieder eliminiert. Nach heutiger Kenntnis spielen beide Mechanismen eine Rolle.

In der vorliegenden Arbeit werden drei Beweise für die Existenz eines Lokalisationsphänomens erbracht:

1. Wurde Kaninchen eine einmalige Endotoxininjektion verabreicht und den Tieren über die nachfolgenden 4 Stunden physiologische Kochsalzlösung infundiert, so wies keines der so behandelten Tiere Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren auf. Wenn den Kaninchen aber anstelle der physiologischen Kochsalzlösung Noradrenalin infundiert wurde, so kam es bei 5 von 8 Tieren zur Fibrinbildung in der Niere.
2. Wenn bei Kaninchen ein intravasaler Gerinnungsprozeß durch Aktivierung des Hageman-Faktors ausgelöst und das fibrinolytische

System durch Epsilon-Aminocapronsäure gehemmt wurde, dann konnten Fibrinpräzipitate in den Glomerulumkapillaren der Niere nur dann beobachtet werden, wenn zusätzlich Noradrenalin infundiert wurde.

3. Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen der trächtigen Ratte konnte durch Hemmung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems verhindert werden.

Diese Befunde lassen daran zweifeln, ob ein intravasaler Gerinnungsprozeß generalisiert ablaufen kann. Die Ergebnisse sprechen dafür, daß intravasale Gerinnung disseminiert abläuft und die Präzipitation von Fibrin durch Lokalisationsfaktoren gesteuert wird.

Das unterschiedliche Verteilungsmuster der manifesten, also mit Fibrinpräzipitation verbundenen, intravasalen Gerinnung kann man nach dem bisher Gesagten auf Lokalisationsphänomene zurückführen. Eine weitere Erklärung, weshalb Fibrin in manchen Organen gehäuft zu finden ist, kann in der Hemmung der Abbaumechanismen für Gerinnungszwischen- und -endprodukte gesucht werden. Injiziert man Affen 10 mg Endotoxin pro kg Körpergewicht, so kommt es zur intravasalen Gerinnung. Die Fibrinbildung ist aber so minimal, bzw. Fibrin bleibt nur so kurzzeitig in den Kapillaren erhalten, daß es mit dem Lichtmikroskop nicht erfaßt werden kann. Mit dem Elektronenmikroskop findet man aber Fibrinfäden, die frei im Plasma, nicht an das Endothel fixiert, herumschwimmen (McKAY und MÜLLER-BERGHAUS, 1967). Ausmaß und Dauer der Verlegung der terminalen Strombahn durch intravasale Fibringerinnsel sind

bestimmende Faktoren für das Auftreten einer Gewebsnekrose im betroffenen Gefäßbezirk (GRAEFF, 1968). MARGARETTEN, ZUNKER und McKAY (1964) zeigten, daß es nach Thrombininfusion zur reversiblen Fibrinablagerung in den Glomerulumkapillaren der Niere kommen kann. Die Ausbildung einer Nierenrindennekrose konnte in diesem Versuch aber erst dann beobachtet werden, wenn die Lyse der Fibringerinnsel durch Epsilon-Aminocaprönsäure blockiert wurde und hierdurch die Gerinnsel bis zur irreversiblen Gewebsnekrose persistierten.

Wir fanden nach Aktivierung des Gerinnungssystems durch Ellagsäure und Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems nur dann Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren, wenn das fibrinolytische System durch Infusion von Epsilon-Aminocaprönsäure gehemmt war. Man kann annehmen, daß es erst durch Persistieren eines jeden Fibrinfadens zur Anhäufung von ausreichend Fibrin kam, um es lichtmikroskopisch erfassen zu können.

Lokalisationsphänomen und Abbaumechanismen für Fibrin stellen pathogenetische Faktoren dar, die für die Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens essentiell sind. Lokalisationsort und Persistieren von Fibrin sind als bedingende Faktoren - ein Ausdruck, den SELYE (1966) geprägt hat - entscheidend für den Ausgang einer Verbrauchskoagulopathie und erklären ihre verschiedenen Ausdrucksformen und Manifestationen. Der Ablauf der Kettenreaktion aber, die zur Verbrauchskoagulopathie führt, nachdem das Gerinnungssystem einmal aus seinem physiologischen Gleich-

gewicht geraten ist, scheint uniform zu sein. Wie es aber zur Umsatzsteigerungen der zellulären und plasmatischen Gerinnungskomponenten kommt, oder anders ausgedrückt, wie die intravasale Gerinnung gestartet wird, ist nur teilweise aufgeklärt.

Man kann verschiedene ätiologische Faktoren unterscheiden, die für den Auslösungsmechanismus einer Verbrauchskoagulopathie bei den einzelnen Krankheiten mit disseminierter intravasaler Gerinnung in Frage kommen: 1. Hämolyse, 2. Gewebethromboplastin, 3. Endotoxin, 4. Antigen-Antikörper-Komplexe, 5. proteolytische Enzyme, 6. partikuläre Substanzen, 7. Anoxie und 8. Endothelschaden (Einzelheiten bei McKAY, 1964 und MÜLLER-BERGHAUS, 1969).

Diese verschiedenen ätiologischen Faktoren greifen an unterschiedlichen Stellen in das Gerinnungssystem ein (Abb. 31):

1. Proteolytische Enzyme wie Thrombin, Trypsin und einige Schlangengifte können durch direkte Wirkung Prothrombin aktivieren, wenn sie in die Zirkulation gelangen. In vitro-Versuche haben die starke prokoagulatorische Aktivität dieser Agenzien bewiesen (TISHKOFF, 1964; NAHAS, DENSON und MACFARLANE, 1964; SEEGER, 1967).
2. Durch Freisetzung von Gewebethromboplastin in das zirkulierende Blut kann es zur Aktivierung des Gewebe-Plasma-Plättchen-Systems, des sog. "extrinsic" Systems der Blutgerinnung, kommen. Zahlreiche Untersuchungen beweisen die Auslösung eines intravasalen

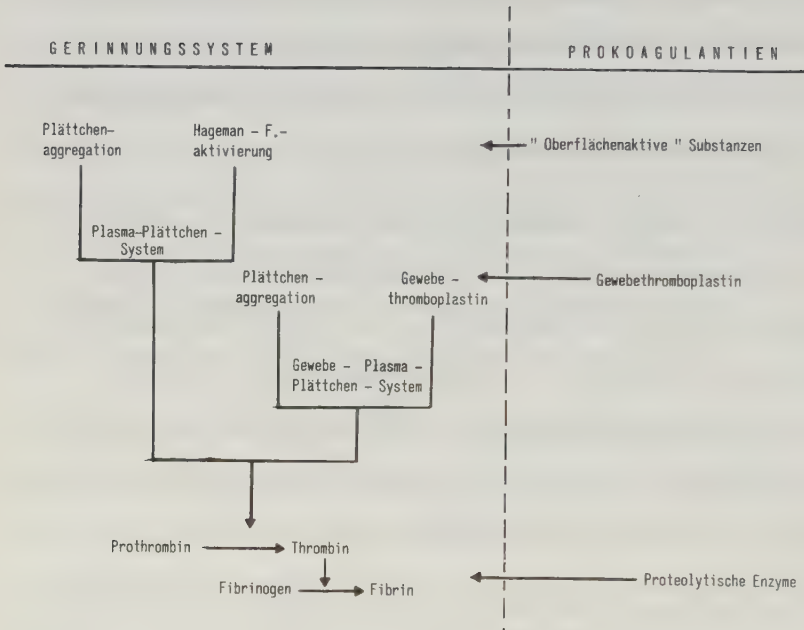


Abb. 31: Mögliche Angriffspunkte verschiedener, eine Verbrauchs-koagulopathie auslösender Faktoren am Gerinnungssystem (Aus: MÜLLER-BERGHAUS, 1969).

Gerinnungsprozesses durch Infusion von Gewebethromboplastin (SCHNEIDER, 1950; IZAK und GALEWSKY, 1966; RAPAPORT et al., 1966).

3. Das Plasma-Plättchen-System, das sog. "intrinsic" System der Blutgerinnung, könnte durch Substanzen aktiviert werden, die an der Kontaktphase der Blutgerinnung bzw. an den Blutplättchen angreifen.

Dieser Mechanismus ist bisher nur für die Gerinnung von Blut im Reagensglas bewiesen (NOSSEL, 1964; WILNER, NOSSEL und LeROY, 1969; RATNOFF, 1966). Substanzen, die den Hageman-Faktor in vitro aktivieren, rufen nur geringe Veränderungen im zirkulierenden Blut hervor, wenn man sie intravenös injiziert oder infundiert (BOTTI und RATNOFF, 1964; GIROLAMI und CLIFFTON, 1967). Dies mag mit Hemmfaktoren gegen die Oberflächenaktivierung zusammenhängen, wie sie von IATRIDIS (1966) beschrieben wurden.

Die Aktivierung der kontaktsensiblen Gerinnungsfaktoren (Hageman-Faktor und Plasma Thromboplastin Antecedent) und Plättchenaggregation sind gemäß in vitro-Versuchen die ersten Veränderungen, die man beim Gerinnen von Blut im Reagensglas feststellt (MACFARLANE, 1964; DAVIE und RATNOFF, 1964; RATNOFF, 1966; PAVLOVSKY, 1966; SEEGER, 1967). In der vorliegenden Arbeit wurde beiden Phänomenen nachgegangen, um zu klären, ob Plättchenaggregation bzw. Aktivierung des Hageman-Faktors bei der Auslösung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens eine Rolle spielen könnten.

Plättchenfaktor 3 wird als entscheidendes Prokoagulans der Plättchen angesehen, der nach der Plättchenaggregation freigesetzt wird und im "intrinsic" System der Blutgerinnung an verschiedenen Stellen angreifen kann. Gemäß einem Gerinnungsschema von MAMMEN (1969) bildet Plättchenfaktor 3 mit dem aktiven Faktor IX, Faktor VIII und Calcium einen Komplex, der Faktor X aktiviert. Der aktive Faktor X soll mit

Plättchenfaktor 3, Faktor V und Calcium wiederum einen Komplex bilden, der den Prothrombinumwandler darstellt. Unter dieser Vorstellung versuchten wir, durch Infusion von gereinigtem Plättchenfaktor 3 bzw. von Phosphatiden, die in vitro Plättchenfaktor-3-Aktivität aufweisen, eine manifeste intravasale Gerinnung auszulösen. Diese Versuche schienen erfolgversprechend zu sein, da Endotoxin, das eine manifeste intravasale Gerinnung auslöst, sowohl in vitro als auch in vivo Blutplättchen aggregiert, und eine Freisetzungsreaktion von Plättchenfaktor 3 und Adeninnukleotiden einleitet (LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE, 1960; DAVIS, MEEKER und McQUARRIE, 1960; RODRIGUEZ-ERDMANN und LASCH, 1961; DES PREZ, HOROWITZ und HOOK, 1961; HOROWITZ, DES PREZ und HOOK, 1962; WEBER, MALESSA und LASCH, 1963; McKAY, MARGARETTEN und CSAVOSSY, 1966). Überraschenderweise konnten weder bei nicht trächtigen Tieren, die mit Endotoxin, Thorotrast, Epsilon-Aminocaprinsäure oder Noradrenalin für das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen "präpariert" waren, noch bei trächtigen Tieren durch Infusion von Plättchenfaktor 3 Fibringerinnung in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit Angaben von EPSTEIN und QUICK (1953) sowie HECHT, CHO und SEEGER (1958) überein, wonach man durch Injektion von Plättchenfaktor 3 weder einen Fibrinogenabfall, also einen intravasalen Gerinnungsprozeß, hervorrufen noch Tiere töten kann. Eigene und die hier zitierten Befunde müssen dahin interpretiert werden, daß die verwendeten Plättchenfaktor-3-Präparationen in ihren physiko-chemischen

Eigenschaften nicht dem durch Endotoxin freigesetzten Plättchenfaktor 3 entsprachen, oder daß Plättchenfaktor 3 in der Tat keinen Trigger der Gerinnung darstellt. Die verwendeten Präparationen hatten in vitro starke prokoagulatorische Eigenschaften. Sie wurden aber jeweils in Systemen getestet, in denen die Gerinnung als bereits angestoßen angesehen werden muß. Methodische Schwierigkeiten verbieten vorläufig das Testen von Plättchenfaktor 3 unter physiologischen Bedingungen, da ein intaktes Gerinnungssystem nur durch Strömen des Blutes sowie eine unversehrte Gefäßwand gewährleistet ist (LASCH, 1963).

Die Bedeutung der Plättchen für einen disseminierten intravasalen Gerinnungsprozeß soll deshalb nicht geleugnet werden, zumal seit den Experimenten von MARGARETTEN und McKAY (1969) bekannt ist, daß das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen, ausgelöst durch Endotoxin, bei thrombocytopenischen Tieren nicht auftritt. Das durch Liquoid ausgelöste Sanarelli-Shwartzman-Phänomen kann aber sehr wohl bei thrombocytenfreien Tieren hervorgerufen werden (EVENSEN und JEREMIC, 1968). Es scheint demnach, als ob die Blutplättchen zur Auslösung eines disseminierten intravasalen Gerinnungsprozesses nicht essentiell sind, es aber entscheidend auf das auslösende Agens ankommt, ob die Plättchen als Prokoagulans im Verlauf, nicht jedoch als Trigger einer Verbrauchskoagulopathie fungieren.

RODRIGUEZ-ERDMANN (1964) beobachtete eine Aktivierung des Hageman-Faktors durch Endotoxin sowohl in vitro als auch in vivo. LERNER,

RAPAPORT und SPITZER (1968) stellten fest, daß die Aktivität des Hageman-Faktors im Verlauf des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens abfällt. Wenn durch Vorbehandlung der Tiere mit Vitamin-K-Antagonisten das Phänomen verhindert wurde, kam es nicht zum Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors (LERNER, RAPAPORT und SPITZER, 1968; MÜLLER-BERGHAUS und SCHNEBERGER, 1969). Falls eine direkte Aktivierung des Hageman-Faktors durch Endotoxin eintreten würde, müßte ein ähnlicher Abfall bei den mit Vitamin-K-Antagonisten behandelten Tieren beobachtet werden, da Vitamin-K-Antagonisten die kontaktsensible Phase der Gerinnung nicht beeinflussen. Ebenso konnte das durch Endotoxin ausgelöste Sanarelli-Schwartzman-Phänomen durch Lysozym, einem Inhibitor gegen die Aktivierung des Hageman-Faktors, nicht verhindert werden (MÜLLER-BERGHAUS und SCHNEBERGER, 1969). Diese Befunde lassen es als unwahrscheinlich erscheinen, daß Endotoxin einen disseminierten intravasalen Gerinnungsprozeß allein durch Aktivierung des Hageman-Faktors startet.

Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen auf die Existenz von Substanzen hin, die sowohl den Hageman-Faktor in vivo aktivieren als auch ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auslösen können. Nach Liquoidinjektion wurde ein starker Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors mit Auslösung einer Verbrauchskoagulopathie beobachtet. Wenn die Aktivierung des Hageman-Faktors durch Infusion von Lysozym gehemmt wurde, blieb die zu erwartende Verbrauchskoagulopathie aus. Auch ließ sich das Sanarelli-

Shwartzman-Phänomen mit Fibrinpräzipitaten in den Glomerulumkapillaren und Blutung in die Nebennieren bei allen Tieren durch Lysozyminfusion verhindern. Interessanterweise konnte Lysozym den nach Liquoidinjektion beobachteten Abfall der Plättchenzahl nicht verhindern, d. h.

Plättchenaggregation trat bei mit Lysozym behandelten Tieren in gleicher Weise auf wie bei den Kontrolltieren. Dies läßt vermuten, daß der intravasale Gerinnungsprozeß, ausgelöst durch Liquoid, nicht ausschließlich über eine Plättchenaggregation eingeleitet wird, da Lysozym keine Phase im Blutgerinnungssystem außer der Aktivierung des Hageman-Faktors hemmt (NOSSEL et al., 1968). Mit diesen Befunden werden unsere Ergebnisse gestützt, die eine Aktivierung des Gerinnungssystems ausschließlich durch Plättchenaggregation und Freisetzungsreaktion von plättchenspezifischen Prokoagulantien widerlegen.

Der zweite Beweis, daß die Aktivierung des Hageman-Faktors einen manifesten intravasalen Gerinnungsprozeß starten kann, wurde durch die in dieser Arbeit zitierten Befunde von McKAY, MÜLLER-BERGHAUS und CRUSE (1969) erbracht. Diese Autoren konnten durch Infusion von Ellagsäure, die *in vitro* wie auch *in vivo* den Hageman-Faktor aktiviert, einen intravasalen Gerinnungsprozeß auslösen. Durch Infusion einer Natriumstearatemulsion, die *in vitro* den Hageman-Faktor aktiviert (BOTTI und RATNOFF, 1963; HOAK, WARNER und CONNOR, 1967) konnte ebenfalls eine disseminierte intravasale Gerinnung hervorgerufen werden (MÜLLER-BERGHAUS, 1969).

Diese Untersuchungen zeigen, daß der für in vitro-Gerinnungsverhältnisse aufgestellte Gerinnungsmechanismus auch in vivo zutreffen kann. Die früheren mißlungenen Versuche anderer Autoren, besonders von BOTTI (1966), durch Infusion von Ellagsäure einen intravasalen Gerinnungsprozeß auszulösen, können dadurch erklärt werden, daß Mechanismen, die offensichtlich für einen intravasalen Gerinnungsprozeß notwendig sind, nicht in Gang gesetzt wurden. BOTTI (1966) blockierte das RES durch Thorotrast und infundierte 6 Stunden später Ellagsäure unter der Vorstellung, daß RES-Blockade eine Hyperkoagulabilität verstärkt. Trotzdem löste Ellagsäure bei Kaninchen, die durch Injektion von Endotoxin oder Thorotrast "präpariert" worden waren, kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen aus. Auf Grund seiner Versuche kommt BOTTI zu dem Schluß, daß "Hyperkoagulabilität nicht zur glomerulären Thrombose führt, wenn die Gerinnung durch Aktivierung der Gerinnungsfaktoren in der Frühphase des "intrinsic" Systems in Gang gesetzt wird".

Wir gingen auf Grund früherer Untersuchungen davon aus, daß zur manifesten intravasalen Gerinnung eine Hemmung der Fibrinolyse (MARGARET-TEN, ZUNKER und McKAY, 1964) und eine Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems (MÜLLER-BERGHHAUS und McKAY, 1967) wichtiger sind als RES-Blockade. Diese Überlegungen konnten bestätigt werden, da Fibringerinnung in der Kaninchenniere nur dann beobachtet wurden, wenn gleichzeitig Ellagsäure zur Aktivierung des Gerinnungssystems, Epsilon-Aminocapronsäure zur Hemmung des fibrinolytischen Systems und Noradrenalin zur Stimulierung des adrenergen Systems

infundiert wurden. Wenn nur eine dieser drei Substanzen ausgelassen wurde, traten keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren auf. Beide Zusatzmechanismen scheinen demnach zur Präzipitation und zum Persistieren von Fibrin für die Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens essentiell zu sein.

Die Frage nach dem Auslösungsmechanismus der Verbrauchskoagulopathie bei Endotoxinämie muß vorläufig noch unbeantwortet bleiben. Wenn Plättchen und Hageman-Faktor als Einzelfaktoren eines Triggermechanismus nicht bewiesen werden können, wendet sich das Interesse wieder mehr der Gefäßwand zu. Erst kürzlich teilten McGRATH und STUART (1969) mit, daß bereits eine Stunde nach Endotoxininjektion jede Endothelzelle der Mesenterialarterie pathologische Veränderungen, nämlich Zellkernvakuolisierung bzw. Zellkernuntergang, aufweist. Unter diesem Gesichtspunkt gewinnen frühere Untersuchungen von MÜLLER-BERGHAUS und LASCH (1963) an Bedeutung, die zeigten, daß die Aortenwand im Verlaufe eines durch Endotoxin ausgelösten Sanarelli-Shwartzman-Phänomens gegenüber Plasma weniger gerinnungsaktiv wird. Bei diesen Experimenten konnte nicht differenziert werden, ob die Aorta im Verlauf des Phänomens an prokoagulatorischen Substanzen verarmt oder gerinnungshemmende Substanzen freisetzt.

H. Zusammenfassung

Die Bedeutung des adrenergen Systems für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen wurde untersucht. Hierbei wurden folgende Befunde erhoben:

1. Die Häufigkeitsrate des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens der trächtigen Ratte, ausgelöst durch einmalige Injektion von Endotoxin, konnte durch Vorbehandlung der Tiere mit Dibenamine bzw. Dibenzylamine von 65% in der Kontrollgruppe auf 13% gesenkt werden ($p < 0,001$).
2. Dibenzylamine zeigte in vitro keinen antikoagulatorischen Effekt auf die Rekalkifizierungszeit von plättchenreichem Plasma.
3. Dibenzylamine konnte in vivo das fibrinolytische System nicht aktivieren.
4. Dibenzylamine verhinderte das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen nicht durch direkte Hemmung des Gerinnungsprozesses bzw. durch Aktivierung des fibrinolytischen Systems.
5. Bei mit Dibenzylamine behandelten trächtigen Ratten wurde ein verminderter Abfall des Fibrinogenspiegels und der Plättchenzahl nach Endotoxininjektion beobachtet.
6. Eine einmalige Endotoxininjektion konnte beim Kaninchen kein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen hervorrufen.
7. Durch Infusion von Noradrenalin nach einmaliger Endotoxininjektion konnte beim Kaninchen ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ausgelöst werden.

Bei der Untersuchung zur Bedeutung des Plättchenfaktor 3 für die Auslösung des intravasalen Gerinnungsprozesses beim Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ergaben sich folgende Punkte:

8. Mit gereinigtem Rinderplättchenfaktor 3 in Konzentrationen, die der Gesamtzahl der Plättchen eines Kaninchens entsprachen, konnten bei Kaninchen, die durch Injektion von Thorotrast für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen "präpariert" worden waren, keine glomerulären Fibringerinnsel erzeugt werden.
9. Durch eine Sojabohnen-Phospholipidpräparation oder durch Kaninchenhirnextrakte, die in vitro Plättchenfaktor-3-Aktivität besitzen, konnten keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren bei Kaninchen hervorgerufen werden, die durch Vorbehandlung mit Thorotrast für das Phänomen "präpariert" worden waren.
10. Bei Ratten konnten nach Infusion von verschiedenen Kaninchenhirnextrakten bzw. von Sojabohnen-Phospholipidpräparationen keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren gefunden werden. Die Ratten waren durch Trächtigkeit oder Injektion von Epsilon-Aminocaprönsäure für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen "präpariert" worden.
11. Bei Kaninchen ließen sich durch gleichzeitige Infusion von Epsilon-Aminocaprönsäure, Noradrenalin und Inosithin keine glomerulären Fibringerinnsel hervorrufen.
12. Durch in vitro-Versuche wurde die Plättchenfaktor-3-Aktivität der ver-

schiedenen Agenzien bestimmt. Die Tiere erhielten teilweise die dreifache Menge der Plättchenfaktor-3-Aktivität, die normalerweise in der gesamten Plättchenzahl eines Kaninchens vorhanden ist. Die Kontrolltiere zu den unter Punkt 8 bis 11 zusammengefaßten Untersuchungen wiesen in einem hohen Prozentsatz ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auf.

Das Verhalten des Hageman-Faktors nach intravenöser Liquoidinjektion und die Bedeutung des Hageman-Faktors für die Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens wurde bei Kaninchen untersucht. Dabei wurden folgende Ergebnisse gewonnen:

13. Nach intravenöser Liquoidinjektion kam es zu einem starken Aktivitätsabfall des Hageman-Faktors ($p < 0,001$).
14. Bei 19 von 20 Kaninchen, denen Liquoid injiziert wurde, und die länger als 45 Minuten lebten, wurden Fibringerinnsel in den Glomerulumkapsillaren nachgewiesen, wie sie typisch für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen sind.
15. Durch Lysozyminfusion konnte die Aktivierung des Hageman-Faktors *in vivo* gehemmt werden.
16. Durch Lysozyminfusion konnte das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen verhindert werden.
17. Bei mit Lysozym behandelten Tieren kam es nach Liquoidinjektion

weder zur Ausbildung von Nierenrindennekrosen noch zu Nebennierenblutungen und nur zu geringgradigen Blutungen in den Lungen, während Kontrolltiere ausgeprägte Nierenrindennekrosen, Nebennierenblutungen und Lungenblutungen aufwiesen.

18. Lysozyminfusion vermochte die fibrinogenpräzipitierende Eigenschaft des Liquoid nicht aufzuheben.
19. Der Abfall der Plättchenzahl nach Liquoidinjektion konnte durch Lysozyminfusion nicht vermindert werden.
20. Lysozym verhinderte den intravasalen Gerinnungsprozeß nach Liquoidinjektion, der sich besonders in dem verminderten Verbrauch von Faktor V ausdrückte.

Durch gleichzeitige Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin ließ sich sowohl beim Kaninchen als auch beim Affen ein "synthetisches" Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auslösen. Dabei ergaben sich folgende, für die Pathogenese des Phänomens wichtige Punkte:

21. Durch gleichzeitige Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocapronsäure und Noradrenalin konnten beim nicht narkotisierten Kaninchen Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden.
22. Wurde eine dieser drei Substanzen bei der Infusion ausgelassen, so kam es zu keiner glomerulären Fibrinbildung.

23. Wurde außer Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin zusätzlich noch Inosithin infundiert, so wurde keine Verstärkung der Reaktion beobachtet. Wenn Ellagsäure durch Inosithin ersetzt wurde, konnten keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren gefunden werden.
24. Sowohl bei konstanter Infusion von 1,25 µg Noradrenalin pro Kilogramm pro Minute als auch bei ansteigender Noradrenalin-dosis konnten glomeruläre Fibringerinnsel festgestellt werden. Bei hoher Noradrenalin-dosis (2,4 µg/kg/min) ließen sich nur noch vereinzelt Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren nachweisen.
25. Elektronenoptische und lichtmikroskopische Untersuchungen zeigten, daß die Gerinnsel in der Lunge größtenteils aus Zellen und weniger aus Fibrin bestanden, während die Gerinnsel in den Glomerulumkapillaren sich hauptsächlich aus Fibrin und Blutplättchen zusammensetzten. Fibrin in den Glomerulumkapillaren hatte eine Periodizität von ungefähr 215 Å .
26. Ellagsäure stellte sich sowohl in vitro als auch in vivo elektronenoptisch als partikuläres Material in Form von feinen Schollen dar.
27. Beim narkotisierten Rhesusaffen konnten ebenso wie beim Kaninchen durch Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprönsäure und Noradrenalin Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren erzeugt werden. Beim Affen ließen sich glomeruläre Fibringerinnsel auch ohne

Infusion von Noradrenalin durch alleinige Gabe von Ellagsäure, Inosithin und Epsilon-Aminocaprinsäure hervorrufen.

28. Durch Vorbehandlung der Affen mit Dibenzylamine, einem Alpha-Rezeptorenblocker des adrenergen Systems, konnte die Bildung von Fibringerinnseln nach Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin verhindert werden.

Mit hämatologischen Untersuchungsverfahren (Bestimmung der Leukocyten- und Thrombocytenzahl, der Faktor-V-Aktivität, des Fibrinogenspiegels und der partiellen Thromboplastinzeit) wurden die bekannten Wirkungsmechanismen von Ellagsäure, Inosithin, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin bestätigt. Die kombinierte Infusion dieser Substanzen zeigte aber neue Gesichtspunkte auf:

29. Nur die kombinierte Infusion von Ellagsäure, Epsilon-Aminocaprinsäure und Noradrenalin führt zur Fibrinbildung in den Glomerularkapillaren, die für das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen charakteristisch ist.
30. Diese drei Substanzen substituieren mindestens drei Effekte des Endotoxins, die zur Auslösung eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens notwendig sind: a. Aktivierung des intravasalen Gerinnungssystems; b. Hemmung des fibrinolytischen Systems; und c. Stimulierung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems.
31. Es wurde gezeigt, daß Ellagsäure einen intravasalen Gerinnungsprozeß

in Gang setzen kann.

32. Zur Auslösung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens war eine Hemmung des fibrinolytischen Systems, die beim "synthetischen" Sanarelli-Shwartzman-Phänomen durch Infusion von Epsilon-Aminocaprönsäure herbeigeführt wurde, notwendig, um entstandenes Fibrin vor einer physiologischen Fibrinolyse zu bewahren.
33. Epsilon-Aminocaprönsäure verstärkte neben seiner Wirkung als Inhibitor des fibrinolytischen Systems den intravasalen Gerinnungsprozeß.
34. Noradrenalin hatte einen synergistischen Effekt auf die Ausbildung von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren. Dibenzylamine verhinderte die Entstehung von glomerulären Fibringerinnseln durch Hemmung der Alpha-Rezeptoren des adrenergen Systems.
35. Inosithin besaß keinen synergistischen Effekt auf die Ausbildung von Fibringerinnseln in den Glomerulumkapillaren.

I. Literatur

- Adams, C.W.M. A p-dimethylaminobenzaldehyde-nitrite method for the histochemical demonstration of tryptophane and related compounds.
J. clin. Path. 10/1, 56 (1957)
- Alkjaersig, N.,
Abe, T.,
Seegers, W.H. Purification and quantitative determination of platelet factor 3.
Amer. J. Physiol. 181, 304 (1955)
- Alkjaersig, N.,
Fletcher, A.P.,
Sherry, S. ϵ -aminocaproic acid: an inhibitor of plasminogen activation.
J. biol. Chem. 234, 832 (1959)
- Apitz, K. Die Wirkung bakterieller Kulturfiltrate nach Umstimmung des gesamten Endothels beim Kaninchen.
Virchows Arch. Path. Anat. 293, 1 (1934)
- Apitz, K. A study of the generalized Schwartzman phenomenon.
J. Immunol. 29, 255 (1935)
- Barnhart, M.I.,
Cress, D.C.,
Vettraiño, A. Cell fates of fibrin and products of fibrinolysis.
Fed. Proc. 26, 538 (1967)
- Beller, F.K.,
Graeff, H. Deposition of glomerular fibrin in the rabbit after infusion with endotoxin.
Nature 215, 295 (1967)
- Beller, F.K.,
Mitchell, P.S.,
Gorstein, F. Fibrin deposition in the rabbit kidney produced by protease inhibitors.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 17, 427 (1967)
- Biggs, R.,
Douglas, A.S.,
Macfarlane, R.G. The formation of thromboplastin in human blood.
J. Physiol. 119, 89 (1953)
- Bleyl, U. Arteriosklerose und Fibrininkorporation. Untersuchungen zur Pathogenese der Aortensklerose.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.

- Bohle, A.,
Sitte, H.,
Miller, F. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am
Glomerulum des Kaninchens beim generalisier-
ten Schwartzman-Phänomen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 41, 326. Stuttgart,
Fischer, 1958.
- Botti, R. E. Assessment of the hypercoagulable state and
ellagic acid. In: K. M. Brinkhous, I. S. Wright,
F. Koller, F. Streuli, F. Duckert: Diffuse
Intravascular Clotting.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.),
Suppl. 20, 49 (1966)
- Botti, R. E.,
Ratnoff, O. D. The clot-promoting effect of soaps of long
chain saturated fatty acids.
J. clin. Invest. 42, 1569 (1963)
- Botti, R. E.,
Ratnoff, O. D. Studies on the pathogenesis of thrombosis: A
experimental "hypercoagulable" state induced
by the intravenous injection of ellagic acid.
J. lab. clin. Med. 64, 385 (1964)
- Brecher, G.,
Cronkite, E. Morphology and enumeration of human blood
platelets.
J. appl. Physiol. 3, 365 (1950)
- Brunson, J. G.,
Gamble, C. N.,
Thomas, L. Morphologic changes in rabbits following the
intravenous administration of meningococcal
toxin. I. The effects produced in young and in
mature animals by a single injection.
Amer. J. Path. 31, 489 (1955)
- Chorine, V. Mode d'action du liquide (polyanétholsulfonate
de sodium) dans la coagulation du sang.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 135, 451 (1941)
- Condie, R. M.,
Hong, C. Y.,
Good, R. A. Reversal of the lesions of the generalized
Shwartzman phenomenon by treatment of
rabbits with streptokinase.
J. lab. clin. Med. 50, 803 (1957)
- Connor, W. E.,
Carter, J. R. Influence of soya bean phosphatide on blood
coagulation and its use in the thromboplastin
generation test.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 38 (1958)

- Cremer, N.,
Watson, D. W. Influence of stress on distribution of endotoxin in RES determined by fluorescein antibody technic.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95, 510 (1957)
- Crowell, J. W.,
Read, W. L. In vivo coagulation. A probable cause of irreversible shock.
Amer. J. Physiol. 183, 565 (1955)
- Davie, E. W.,
Ratnoff, O. D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting.
Science 145, 1310 (1964)
- Davis, R. B.,
Meeker, W. R.,
McQuarrie, D. G. Immediate effects of intravenous endotoxin on serotonin concentrations and blood platelets.
Circul. Res. 8, 234 (1960)
- Des Prez, R. M.,
Horowitz, H. I.,
Hook, E. W. Effects of bacterial endotoxin on rabbit platelets. I. Platelet aggregation and release of platelet factors in vitro.
J. exp. Med. 114, 857 (1961)
- Deykin, D.,
Cochios, F.,
DeCamp, G.,
Lopez, A. Hepatic removal of activated factor X by the perfused rabbit liver.
Amer. J. Physiol. 214, 414 (1968)
- Eberth, J. C.,
Schimmelbusch, C. Experimentelle Untersuchungen über Thrombose.
Virchows Arch. Path. Anat. 103, 39 (1886)
- Egdahl, R. The differential response of the adrenal cortex and medulla to bacterial endotoxin.
J. clin. Invest. 38, 1120 (1959)
- Epstein, E.,
Quick, A. J. Effect of injecting platelet extract intravenously.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 453 (1953)
- Erspamer, V.,
Sala, G. Identification of the stable antidiuretic substance ("stable ADS") of serum with 5-hydroxytryptamine.
Brit. J. Pharmacol. 9, 31 (1954)
- Evensen, S. A.,
Jeremic, M. Intravascular coagulation with generalized Schwartzman reaction induced by Liquoid: lack of protection by extreme thrombocytopenia.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 19, 556 (1968)

- Graeff, H. Disseminierte intravasale Gerinnung während der Infusion von Endotoxin. Ein Modellversuch am Tier.
Habil.-Schrift, Heidelberg 1968
- Gratia, A.,
Linz, R. Les phénomènes de Sanarelli et de Shwartzman ou l'allergie hémorrhagique.
Ann. Inst. Pasteur 49, 131 (1932)
- Hall, D. L.,
Broom, J. S.,
Brunson, J. G. Effects of epinephrine tolerance on the Shwartzman phenomenon.
Amer. J. Path. 44, 431 (1964)
- Hanger, F. M. Effect of intravenous bacterial filtrates on skin tests and local infections.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 25, 775 (1927-28)
- Hardaway, R. M. Syndromes of Disseminated Intravascular Coagulation: With Special Reference to Shock and Hemorrhage.
Springfield, Ill., Charles C. Thomas, Publisher, 1966
- Hartert, H. Die Thrombelastographie, eine Methode zur physikalischen Analyse des Blutgerinnungsvorganges.
Z. ges. exp. Med. 117, 189 (1951)
- Hausman, R.,
Dreyfus, P. M. Intracapillary precipitation produced in rabbits by means of sodium polyanetholsulfonate.
Arch. Path. 56, 597 (1953)
- Hawiger, J.,
Collins, R. D.,
Horn, R. G. Precipitation of soluble fibrin monomer complexes by lysosomal protein fraction of polymorphonuclear leukocytes.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 131, 349 (1969)
- Hecht, E. R. Lipids In Blood Clotting.
Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill., 1965, pp. 175
- Hecht, E. R.,
Cho, M. H.,
Seegers, W. H. Thromboplastin: nomenclature and preparation of protein-free material different from platelet factor 3 and lipid activator.
Amer. J. Physiol. 193, 584 (1958)

- Heiffer, M. H.,
Mundy, R. L.,
Mehlman, B. Effect of lethal doses of bacterial endotoxin
(*E. coli*) on sympathetic neurohormones of the
rabbit.
Amer. J. Physiol. 198, 1307 (1960)
- Hershey, S. G.,
Zweifach, B. W. Adaptation: the key to the problem in shock.
Canad. Anaesth. Soc. J. 8, 529 (1961)
- Horn, R. G.,
Collins, R. D. Studies on the pathogenesis of the generalized
Shwartzman reaction. The role of granulocytes.
Lab. Invest. 18, 101 (1968)
- Horowitz, H. I. The effect of bacterial endotoxins on blood
coagulation.
Hémostase 4, 43 (1964)
- Horowitz, H. I.,
Des Prez, R. M.,
Hook, E. W. Effects of bacterial endotoxin on rabbit
platelets. II. Enhancement of platelet factor 3
activity in vitro and in vivo.
J. exp. Med. 116, 619 (1962)
- Huth, K.,
Karliczek, G. Die Endotoxin-induzierte Hyperlipämie des
Kaninchens.
*Verhdlg. 24. Tag. Dtsch. Ges. Verdauungs-
und Stoffwechselkr.*, Hamburg 1967. Thieme,
Stuttgart, 1968, pp. 372
- Iatridis, S. G. Fibrinolysis and intravascular coagulation.
Separate or associated mechanisms. In:
K. M. Brinkhous, I. S. Wright, F. Koller,
F. Streuli, F. Duckert: *Diffuse Intravascular
Clotting*.
Thrombos. Diathes. haemorrh., Suppl. 20,
53 (1966)
- Izak, G.,
Galewsky, K. Studies on experimentally induced hypercoagu-
lable state in rabbits.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 16,
228 (1966)
- Kleinmaier, H.,
Goergen, K.,
Lasch, H. G.,
Krecke, H.-J.,
Bohle, A. Untersuchungen zur Frage der Gerinnungsstö-
rung beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen
(sog. generalisiertes Shwartzman-Phänomen)
des Kaninchens.
Z. ges. exp. Med. 132, 275 (1959)

- Kliman, A.,
McKay, D. G. The prevention of the generalized Schwartzman reaction by fibrinolytic activity.
Arch. Path. 66, 715 (1958)
- Koller, F.,
Loeliger, A.,
Duckert, F. Experiments on a new clotting factor.
Acta haemat. 6, 1 (1951)
- Krecke, H. - J. Zum generalisierten Schwartzman-Phänomen (Sanarelli-Schwartzman-Phänomen) und seiner Bedeutung für die menschliche Pathologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1964
- Kusama, S. Über Aufbau und Entstehung der toxischen Thrombose und deren Bedeutung.
Beitr. Path. Anat. 55, 459 (1913)
- Lasch, H. G. Untersuchungen zur Dynamik im System der Blutgerinnungsfaktoren ("latente Gerinnung" in der Blutbahn).
Habil. -Schrift, Heidelberg, 1959
- Lasch, H. G. Blutgerinnung im Schock.
VIIth Internat. Congr. Intern. Med. 1962,
Thieme Verlag Stuttg., 1963, pp. 447
- Lasch, H. G. Zur Pathophysiologie und Klinik des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.),
Suppl. 14, 63 (1964)
- Lasch, H. G.,
Heene, D. L.,
Huth, K.,
Sandritter, W. Pathophysiology, clinical manifestations and therapy of consumption-coagulopathy ("Verbrauchskoagulopathie").
Amer. J. Cardiol. 20, 381 (1967)
- Lasch, H. G.,
Krecke, H. - J.,
Rodríguez-Erdmann, F.,
Sessner, H. H.,
Schütterle, G. Verbrauchskoagulopathien.
Folia haematol., Neue Folge 6, 325 (1961)
- Lasch, H. G.,
Mechelke, K.,
Nusser, E. Über Änderungen der Gerinnungsfaktoren Prothrombin und VII bei hyper- und hypocirculatorischen Kreislaufumstellungen der Katze.
Dtsch. Arch. Klin. Med. 204, 1 (1957)

- Lasch, H. G.,
Mechelke, K.,
Nusser, E.,
Daoud, F. Der Einfluß der Fibrinolyse auf den Verlauf des
hämorrhagischen Schocks.
Klin. Wschr. 39, 1137 (1961)
- Lasch, H. G.,
Mechelke, K.,
Nusser, E.,
Sessner, H. H. Über Beziehungen zwischen Blutgerinnung und
Kreislauffunktion.
Zschr. ges. exp. Med. 129, 484 (1958)
- Lasch, H. G.,
Rodríguez-Erdmann, F.,
Krecke, H. -J. Quantitative und qualitative Veränderungen der
Thrombozyten beim Sanarelli-Shwartzman-
Phänomen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 66, 992 (1960)
- Lasch, H. G.,
Rodríguez-Erdmann, F.,
Westenhoefer, D. Der Einfluß der Fibrinolyse auf den Verlauf des
Sanarelli-Shwartzman-Phänomens.
Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat., Wien
1961, p. 469
- Lasch, H. G.,
Róka, L. Zur Prothrombinbildung in der Leber.
Hoppe Seyler's Zschr. physiol. Chem. 294, 30
(1953)
- Lee, L. Reticuloendothelial clearance of circulating
fibrin in the pathogenesis of the generalized
Schwartzman reaction.
J. exp. Med. 115, 1065 (1962)
- Lee, L.,
McCluskey, R. T. Immunohistochemical demonstration of the
reticuloendothelial clearance of circulating
fibrin aggregates.
J. exp. Med. 116, 611 (1962)
- Lerner, R. G.,
Rapaport, S. I.,
Spitzer, J. M. Endotoxin-induced intravascular clotting: the
need for granulocytes.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 20,
430 (1968)
- Levin, J.,
Beck, E. A re-appraisal of the role of blood coagulation
and platelets in the generalized Schwartzman
phenomenon.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 15,
519 (1966)
- Lüscher, E. F. Platelets in haemostasis and thrombosis.
Brit. J. Haemat. 13, 1 (1967)

- Lüscher, E. F. Kontaktaktivierung, biologisch gesehen. In: Schröer, H.: Biochemie und Aktivierung des Prothrombins. Kontaktaktivierung, biologisch gesehen. Niereninsuffizienz und Homöostase. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.), Suppl. 25, 79 (1968)
- Macfarlane, R. G. An enzyme cascade in blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. Nature 202, 498 (1964)
- Mammen, E. F. Grundlagen der Anticoagulantien-Behandlung. Internist 10, 2 (1969)
- Mammen, E. F.,
Grammens, G. Purification and properties of bovine Hageman factor. Fed. Proc. 26, 2813 (1967)
- Margaretten, W.,
Csavossy, I.,
McKay, D. G. An electron microscopic study of thrombin-induced disseminated intravascular coagulation. Blood 29, 169 (1967)
- Margaretten, W.,
Elting, J.,
Rothenberg, J.,
McKay, D. G. Experimental adrenal hemorrhage in the generalized Schwartzman reaction. Lab. Invest. 14, 687 (1965)
- Margaretten, W.,
McKay, D. G. The role of the platelet in the generalized Schwartzman reaction. J. exp. Med. 129, 585 (1969)
- Margaretten, W.,
Zunker, H. O.,
McKay, D. G. Production of the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats by intravenous infusion of thrombin. Lab. Invest. 13, 552 (1964)
- McGehee, W. G.,
Hjort, P. F.,
Rapaport, S. I. Effects of Thorium dioxide upon blood clotting and platelets. II. In vivo studies in rabbits. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 16, 354 (1966)
- McGrath, J. M.,
Stewart, G. J. The effects of endotoxin on vascular endothelium. J. exp. Med. 129, 833 (1969)
- McKay, D. G. Disseminated Intravascular Coagulation. An Intermediary Mechanism of Disease. Hoeber, New York, Evanston, London, 1964

- McKay, D. G. Blood coagulation and the generalized Shwartzman reaction.
In: Diffuse Intravascular Clotting, Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.), Suppl. 20, 107 (1966)
- McKay, D. G.,
Gitlin, D.,
Craig, J. M. Immunochemical demonstration of fibrin in the generalized Shwartzman reaction.
Arch. Path. 67, 270 (1959)
- McKay, D. G.,
Margaretten, W.,
Csavossy, I. An electron microscope study of the effects of bacterial endotoxin on the blood-vascular system.
Lab. Invest. 15, 1815 (1966)
- McKay, D. G.,
Merriam, J. C. Vascular changes induced by bacterial endotoxin during generalized Shwartzman reaction. Effect of cortisone.
Arch. Path. 69, 524 (1960)
- McKay, D. G.,
Müller-Berghaus, G. Therapeutic implications of disseminated intravascular coagulation.
Amer. J. Cardiol. 20, 392 (1967)
- McKay, D. G.,
Müller-Berghaus, G. Hageman Factor (HF) and the generalized Shwartzman reaction (GSR).
Fed. Proc. 27, 436 (1968)
- McKay, D. G.,
Müller-Berghaus, G.,
Cruse, V. Activation of Hageman factor by ellagic acid and the generalized Shwartzman reaction.
Amer. J. Path. 54, 393 (1969)
- McKay, D. G.,
Rowe, F. J. The effect on the arterial vascular system of bacterial endotoxin in the generalized Shwartzman reaction.
Lab. Invest. 9, 117 (1960)
- McKay, D. G.,
Shapiro, S. S. Alterations in the blood coagulation system induced by bacterial endotoxin. I. In vivo (generalized Shwartzman reaction).
J. exp. Med. 107, 353 (1958)
- McKay, D. G.,
Shapiro, S. S.,
Shanberge, J. N. Alterations in the blood coagulation system induced by bacterial endotoxins. II. In vitro.
J. exp. Med. 107, 369 (1958)
- Merskey, C.,
Johnson, A. J.,
Pert, J. H.,
Wohl, H. Pathogenesis of fibrinolysis in defibrination syndrome: Effect of heparin administration.
Blood 24, 701 (1964)

- Müller-Berghaus, G. Zur Pathophysiologie der Verbrauchskoagulopathie.
Bibl. haemat., No. 32, Karger 1969, pp. 257
- Müller-Berghaus, G. Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.), Suppl. 36, 45 (1969)
- Müller-Berghaus, G., Davidson, E., McKay, D. G. Prevention of the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats by alpha-adrenergic blockade. (Effects on the coagulation mechanism). Obstet. Gynec. 30, 774 (1967)
- Müller-Berghaus, G., Goldfinger, D., Margaretten, W., McKay, D. G. Platelet factor 3 and the generalized Schwartzman reaction.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 18, 726 (1967)
- Müller-Berghaus, G., Lasch, H. G. Untersuchungen über Beziehungen zwischen Gefäß- und Gerinnungsfaktoren beim Sanarelli-Schwartzman-Phänomen.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 9, 335 (1963)
- Müller-Berghaus, G., McKay, D. G. Prevention of the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats by α -adrenergic blocking agents.
Lab. Invest. 17, 276 (1967)
- Müller-Berghaus, G., Schneberger, R. Consumption of Hageman factor in the generalized Schwartzman reaction.
In Vorbereitung
- Nahas, L., Denson, K. W. E., Macfarlane, R. G. A study of the coagulant action of eight snake venoms.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 12, 353 (1964)
- Nossel, H. L. The Contact Phase of Blood Coagulation.
Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1964
- Nossel, H. L., Rubin, H., Drillings, M., Hsieh, R. Inhibition of Hageman factor activation.
J. clin. Invest. 47, 1172 (1968)

- O'Brien, J. A comparison of platelet aggregation produced by seven compounds and a comparison of their inhibitors.
J. clin. Path. 17, 275 (1964)
- Palmerio, C.,
Ming, S. C.,
Frank, E.,
Fine, J. The role of the sympathetic nervous system in the generalized Schwartzman reaction.
J. exp. Med. 115, 609 (1962)
- Pavlovsky, A. Scheme of coagulation.
In: Brinkhous, K. M., I. S. Wright, F. Koller, F. Streuli, F. Duckert: Diffuse Intravascular Clotting. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) Suppl. 20, 327 (1966)
- Phillips, L. L.,
Margaretten, W.,
McKay, D. G. Changes in the fibrinolytic enzyme system following intravascular coagulation induced by thrombin and endotoxin.
Amer. J. Obstet. Gynec. 100, 319 (1968)
- Phillips, L. L.,
Skrodelis, V. The fibrinolytic enzyme system in normal, hemorrhagic and disease states.
J. clin. Invest. 37, 965 (1958)
- Price, H. L. The significance of catecholamine release during anesthesia.
Brit. J. Anaesth. 38, 705 (1966)
- Procter, R. R.,
Rapaport, S. I. The partial thromboplastin time with kaolin.
Amer. J. clin. Path. 36, 212 (1961)
- Rapaport, S. I.,
Hjort, P. F.,
Patch, M. J.,
Jeremic, M. Consumption of serum factors and prothrombin during intravascular clotting in rabbits.
Scand. J. Haemat. 3, 59 (1966)
- Ratnoff, O. D. The biology and pathology of the initial stages of blood coagulation.
Progr. Hematol. 5, 204 (1966)
- Ratnoff, O. D.,
Crum, J. D. Activation of Hageman factor by solutions of ellagic acid.
J. Lab. clin. Med. 63, 359 (1964)

- Ratnoff, O.D.,
Menzie, C. . A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma.
J. lab. clin. Med. 37, 316 (1951)
- Ratnoff, O.D.,
Rosenblum, J.M. Role of Hageman factor in the initiation of clotting by glass. Evidence that glass frees Hageman factor from inhibition.
Am. J. Med. 25, 160 (1958)
- Rodríguez-Erdmann, F. Studies on the pathogenesis of the generalized Schwartzman reaction. III. Trigger mechanism for the activation of the prothrombin molecule. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 12, 471 (1964)
- Rodríguez-Erdmann, F. Intravascular activation of the clotting system with phospholipids. Production of the generalized Schwartzman reaction with platelet factor 3. Blood 26, 541 (1965)
- Rodríguez-Erdmann, F.,
Krecke, H.-J.,
Lasch, H.G.,
Bohle, A. Über die morphologischen und gerinnungsanalytischen Veränderungen nach Liquoid. Ein Beitrag zur Pathogenese des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens.
Zschr. ges. exp. Med. 134, 109 (1960)
- Rodríguez-Erdmann, F.,
Lasch, H.G. Quantitative und qualitative Störungen der Thrombozyten nach Injektion hochmolekularer Polymerer.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 5, 518 (1961)
- Róka, L. Physiologische Wechselwirkung zwischen Gefäßinhalt und Gefäßwand.
Deutsch. Med. J. 18, 349 (1967)
- Rosenberg, J.C.,
Lillehei, R.C.,
Longerbeam, J.,
Zimmermann, B. Studies on hemorrhagic and endotoxin shock in relation to vasomotor changes and endogenous circulating epinephrine, norepinephrine and serotonin.
Ann. Surg. 154, 611 (1961)
- Rosenberg, J.C.,
Lillehei, R.C.,
Moran, W.H.,
Zimmermann, B. Effect of endotoxin on plasma catecholamines and serum serotonin.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 102, 335 (1959)

- Sanarelli, G. Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 8, 193 (1894)
- Sanarelli, G. De la pathogénie du choléra (Neuvième mémoire). Le choléra expérimental. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 38, 11 (1924)
- Schneider, C. L. Thromboplastin complications of late pregnancy. In: Toxemias of Pregnancy, Human and Veterinary. A Ciba Foundation Symposium. Philadelphia, Blakiston, 1950, pp. 163
- Seegers, W. H. Use and regulation of the blood clotting mechanisms. In: W. H. Seegers: Blood Clotting Enzymology. Academic Press, New York, London, 1967, pp. 1
- Selye, H. Thrombohemorrhagic Phenomena. Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1966
- Shapiro, S. S.,
McKay, D. G. The prevention of the generalized Schwartzman reaction with sodium warfarin. J. exp. Med. 107, 377 (1958)
- Sherry, S.,
Fletcher, A. P.,
Alkjaersig, N.,
Sawyer, W. D. ε-aminocaproic acid, "a potent antifibrinolytic agent". Tr. Assoc. Am. Physicians 72, 62 (1959)
- Shimamoto, T.,
Yamazaki, H.,
Sagawa, N.,
Iwahara, S.,
Konishi, T.,
Maezawa, H. Effect of bacterial endotoxins on platelets and release of serotonin (5-hydroxytryptamine). II. Appearance of platelet-agglutinating substance and serotonin (5-hydroxytryptamine) in the plasma of rabbit by administration of bacterial endotoxin. Proc. Japan Acad. 34, 450 (1958)
- Shwartzman, G. A new phenomenon of local skin reactivity to B. typhosus culture filtrate. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 25, 560 (1927-28).
- Shwartzman, G.,
Bernheim, A. I.,
Gerber, I. E. The phenomenon of tissue reactivity in the kidneys of rabbits. J. Mount Sinai Hosp. N. Y. 4, 1020 (1938)

- Spaet, T. H.,
Horowitz, H. I.,
Zucker-Franklin, D.,
Cintron, J.,
Biezenski, J. J. Reticulo-endothelial clearance of blood thrombo-
platin by rats.
Blood 17, 196 (1961)
- Stefanini, M. New one-stage procedure for quantitative de-
termination of prothrombin and labile factor.
Amer. J. Clin. Path. 20, 233 (1951)
- Stetson, C. A., Similarities in the mechanisms determining
the Arthus and the Shwartzman phenomena.
J. exp. Med. 94, 539 (1951)
- Stetson, C. A.,
Good, R. A. Studies on the mechanism of the Shwartzman
phenomenon. Evidence for the participation of
polymorphonuclear leukocytes in the phenome-
non.
J. exp. Med. 93, 49 (1951)
- Thomas, L. The role of epinephrine in the reactions produced
by the endotoxins of gram-negative bacteria.
I. Hemorrhagic necrosis produced by epineph-
rine in the skin of endotoxin-treated rabbits.
J. exp. Med. 104, 865 (1956)
- Thomas, L. The role of the reticulo-endothelial system in
the reaction of endotoxins.
In: Halpern et al.: Physiopathology of the
Reticulo-Endothelial System. Charles C. Thomas,
Springfield, Ill., 1957, pp. 226
- Thomas, L.,
Brunson, J.,
Smith, R. T. Studies on the generalized Shwartzman reaction.
VI. Production of the reaction by the synergistic
action of endotoxin with three synthetic acidic
polymers (sodium polyanethol sulfonate, dextran
sulfonate, and sodium polyvinyl alcohol sulfonate).
J. exp. Med. 102, 249 (1955)
- Thomas, L.,
Good, R. A. Studies on the generalized Shwartzman reaction.
I. General observations concerning the phenome-
non.
J. exp. Med. 96, 605 (1952)
- Thomas, L.,
Smith, R. T.,
von Korff, R. Studies on the generalized Shwartzman reaction.
VII. The role of fibrinogen in the deposition of
fibrinoid after combined injections of endotoxin
and synthetic acidic polymer.
J. exp. Med. 102, 263 (1955)

- Tishkoff, G. H. Proteolytic digestion of purified bovine prothrombin: formation of active fragments. *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* 10, 390 (1964)
- Trueta, J.,
Barclay, A. E.,
Franklin, K. J.,
Daniel, P. M.,
Prichard, M. M. L. Studies of the Renal Circulation. Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1947, pp. 187
- Vassalli, P.,
Simon, G.,
Rouiller, C., Ultrastructural study of platelet changes initiated in vivo by thrombin. *J. Ultrastruct. Res.* 11, 374 (1964)
- Weber, E.,
Malessa, S.,
Lasch, H. G. Veränderungen der freien Thrombocytennucleotide beim generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomen. *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* 9, 304 (1963)
- Wiener, J.,
Spiro, D.,
Margaretten, W. An electron microscopic study of reticuloendothelial system blockade. *Amer. J. Path.* 45, 783 (1964)
- Wilner, G. D.,
Nossel, H. L.,
LeRoy, E. C. Activation of Hageman factor by collagen. *J. clin. Invest.* 47, 2608 (1968)
- Wilner, G. D.,
Nossel, H. L.,
LeRoy, E. C. Aggregation of platelets by collagen. *J. clin. Invest.* 47, 2616 (1968)
- Wong, T. -C. A study on the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats induced by bacterial endotoxin. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 84, 786 (1962)
- Wong, T. -C.,
Galton, M.,
McKay, D. G. Thorotrast effect on vasomotor changes of Schwartzman reaction. *Arch. Path.* 72, 280 (1961)
- Zdrowski, P.,
Brenn, H. Über homologe und heterologe Sensibilisierung des Organismus gegen Bakterienprodukte und über die eventuelle Bedeutung dieser Erscheinungen für die Pathologie. *Zbl. Bakt.* 99, 159 (1962)

Zunz, E.,
Mena-Ugalde, C.,
Vesselovsky, O.

Contribution à l'étude de l'action du polyanéthol-
sulfonate sodique ou liquoide sur la coagulation
sanguine.

Sang 9, 1 (1935)

An dieser Stelle möchte ich herzlich danken:

Herrn Professor Dr. H. G. Lasch, der in Heidelberg 1960 mein wissenschaftliches Interesse begründete und seit dieser Zeit ein verständnisvoller, anregender und liebenswerter Helfer bei allen wissenschaftlichen, aber auch persönlichen Problemen war;

Herrn Dr. D. G. McKay und Herrn Dr. W. Margaretten, die mich mit der Morphologie der intravasalen Gerinnung während meines Aufenthaltes in den USA vertraut machten und bei denen ich für meine wissenschaftliche Arbeit entscheidende Anregungen in freundlicher und fruchtbarer Atmosphäre erhielt;

Herrn Professor Dr. L. Róka für wertvolle Hinweise und die Durchsicht des Manuskriptes;

den Herren Dr. U. Bleyl, Dr. H. Graeff, Dr. D. Heene, Dr. K. Huth, Dr. Ch. Mueller-Eckhardt und Dr. H. Neuhof für wissenschaftliche Zusammenarbeit und kritische Diskussionen;

den technischen Assistentinnen Frau A. Chandoni, Fräulein V. Cruse, Frau I. Csavossy, Fräulein E. Lohmann, Fräulein B. Michel und Frau M. Vetter, sowie den Photographen Frau B. Erb und Herrn L. Jung für ihre sorgfältige und ausdauernde Hilfe;

der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Bad Godesberg und dem National Institute of Health in Bethesda, USA, für finanzielle Unterstützung.

Foto-Druck
Chemoprint OHG.
Gießen